



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

# ESTUDO DAS ALTERAÇÕES DO METABOLISMO DOS HIDRATOS DE CARBONO EM GATOS COM NEOPLASIA

JOANA ISABEL GOMES RODRIGUES DA SILVA

## CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Henrique Duarte Correia

Doutor José Henrique Rocha Dias Correia

Doutora Graça Maria Leitão Ferreira Dias

Dr. Nuno Manuel Mira Flor dos Santos Félix

## ORIENTADOR

Dr. Nuno Manuel Mira Flor dos Santos  
Félix

## CO-ORIENTADOR

Doutora Graça Maria Leitão Ferreira  
Dias

2010

LISBOA





UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

# ESTUDO DAS ALTERAÇÕES DO METABOLISMO DOS HIDRATOS DE CARBONO EM GATOS COM NEOPLASIA

JOANA ISABEL GOMES RODRIGUES DA SILVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

## CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Henrique Duarte Correia

Doutor José Henrique Rocha Dias Correia

Doutora Graça Maria Leitão Ferreira Dias

Dr. Nuno Manuel Mira Flor dos Santos Félix

## ORIENTADOR

Dr. Nuno Manuel Mira Flor dos Santos  
Félix

## CO-ORIENTADOR

Doutora Graça Maria Leitão Ferreira  
Dias

2010

LISBOA



*“Imagination is more important than knowledge. For knowledge is limited to all we now know and understand, while imagination embraces the entire world, and all there ever will be to know and understand.”*

Albert Einstein (1879-1955)

*“I'm afraid I'm not personally qualified to confuse cats, but I can recommend an extremely good service.”*

Vet, "Monty Python's Flying Circus"



## **Agradecimentos**

Nesta altura, em que uma fase importante da vida termina e se abrem novas e diferentes oportunidades de caminho, é inevitável olhar para trás e apreciar o carinho e dedicação que algumas pessoas nos ofereceram de uma forma tão simples. São estas pessoas que com pequenos grandes gestos marcam e ensinam a importância de saber viver e aproveitar tudo quanto nos é dado. Agradeço essas maravilhosas lições de vida, que às vezes custaram a aprender.

Ao Prof. Dr. António Ferreira, director do Hospital Escolar da FMV, pela possibilidade de estagiar no Hospital Escolar da FMV, bem como por autorizar o financiamento deste estudo.

Ao Dr. Nuno Félix, meu orientador, por me ter aceite como estagiária quando ainda nem me conhecia, por toda a inspiração, ajuda e sabedoria que me transmitiu ao longo do estágio. Agradeço a orientação na escolha do tema, na elaboração do protocolo e as longas horas que despendeu a corrigir esta dissertação. Não esquecendo o seu riso e piadas inconfundíveis, que tornavam qualquer ecografia um momento de culturas geral e popular.

À Professora Doutora Graça Maria Ferreira Dias, por ter aceite o meu pedido de co-orientação com um sorriso e disponibilidade únicos, por todo o apoio mesmo nos dias mais difíceis em que me tive de dedicar à dissertação para me esquecer de tudo o resto.

À Professora Doutora Maria Manuela Rodeia, pela sugestão de alargamento da população e disponibilidade, sem as quais o estudo continuaria provavelmente parado.

Ao Dr. Rodrigo Bom, Dr.<sup>a</sup> Ana Murta, Dr. Gonçalo Vicente, à Carla Silva, à Inês Rocha, à Marta, ao Hugo, à Anita, ao Ricardo, ao Filippo e ao Giacomo pela indispensável e calorosa ajuda na realização do estudo, exibindo sempre sorrisos e conseguindo manter sempre um tom de graça durante as várias manhãs.

À restante equipa de médicos, auxiliares e estagiários que tanto me ensinaram e fizeram sentir em casa.

Ao laboratório DNAtch® pela “simpatia” que fez em relação às análises e pela disponibilidade de contacto.

À minha Mãe, ao meu Pai, ao Tó, aos meus Avós Adolfo, Jorge, Celeste, Margarida e Isabel, Tias Margarida e Ana e restante família, pelo seu incansável apoio, por festejarem as minhas vitórias e sofrerem com as minhas derrotas. Por todo o exemplo de força heróica que todos sempre me demonstraram.

Às minhas queridas amigas Carolina, Sara, Mónica, Anita, Catarina, Leonor, Frederica, Marta e Mafaldas, que me mostraram que afinal, as grandes amizades constroem-se na universidade e que se fortificam além e através desta.

À minha restante família veterinária, Vanessa, Bruno e Vera, sempre de facto útil veterinário e técnica de contenção em mão.

Ao Tiago, por me mostrar que há ligações que não se explicam e que nos mantêm de pé, mesmo a muitos quilómetros de distância.

À Dr.<sup>a</sup> Ana Isabel, ao Prof. Carvalho Neto, ao Daniel e à Ana Luísa por me mostrarem uma nova realidade.

Às minhas irmãs de estágio, Sofia e Carla, pelos momentos de risota e troca de conhecimento sob a alçada do nosso pai.

Ao Ricardo, por ser o grande amigo que me mostrou que querendo, podemos fazer várias coisas ao mesmo tempo, fazê-las bem e aproveitá-las ainda melhor.

Aos médicos, enfermeiras, auxiliares e alunos da Universidade de Bristol, que permitiram que conhecesse uma realidade diferente da realidade Veterinária Portuguesa, disponibilizando-se sempre para ajudar e ensinar-me mais.

Aos autores de todos os artigos que consultei, especialmente à Dr.<sup>a</sup> Beverly Kidney por me ter facultado prontamente o artigo que lhe pedi.

A todas os restantes amigos e conhecidos que de alguma forma contribuíram para o meu percurso académico e de vida.





## Resumo

A neoplasia constitui em Medicina Veterinária uma doença de extrema importância, afectando cães e gatos de todas as idades e constituindo uma das principais causas de morte nestas espécies (Withrow & Vail, 2007). Em Oncologia Veterinária, é cada vez mais frequente a detecção de síndromes paraneoplásicas, que requerem uma melhor compreensão para que seja possível um acompanhamento clínico mais adequado, tal como é realizado em Seres Humanos. A presente dissertação propôs-se a estudar as alterações relacionadas com o metabolismo dos hidratos de carbono em gatos com vários tipos de neoplasias, comparando-os com gatos saudáveis, através de um protocolo semelhante ao realizado em cães com neoplasias não hematopoiéticas e linfoma (Ogilvie *et al*, 1992; Ogilvie *et al*, 1997). Visou determinar a existência de alterações em determinados parâmetros (glucose, insulina, cortisol, adrenalina e lactato) que pudessem ser estabelecidos como factores de prognóstico neoplásico, bem como possíveis indicadores precoces de caquexia oncológica. A população em estudo consistiu em dois grupos de cinco gatos cada, de raça Europeu Comum, com idades de  $3,75 \pm 2,66$  anos (média±erro padrão) e  $9,6 \pm 2,97$  anos (média±erro padrão) e pesos de  $3,74 \pm 0,70$  kg (média±erro padrão) e  $4,7 \pm 1,58$  kg (média±erro padrão), para os grupos Controlo e Neoplasia, respectivamente. Para efeitos do estudo, os animais foram submetidos a um jejum de 12 horas, após o qual foi feita a primeira recolha de sangue (tempo zero). O passo seguinte consistiu na administração de glucose a 30% (500mg/kg p.v.) e subsequentes recolhas aos 30 e 60 minutos. Não foi detectada uma diferença significativa entre os pesos dos dois grupos, quando analisados através da análise de variância ANOVA ( $p > 0,05$ ). O mesmo não ocorreu com as idades, já que a diferença entre os dois grupos, foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Foram encontradas diferenças significativas entre os valores médios de glucose dos dois grupos, no tempo zero ( $p < 0,05$ ), assim como entre os tempos 30 e 60 do grupo Neoplasia ( $p < 0,05$ ); entre os valores médios de cortisol para os tempos 30 e 60 do grupo Neoplasia ( $p < 0,01$ ); entre os valores médios de insulina para os tempos 30 e 60 do grupo Neoplasia ( $p < 0,05$ ); e entre valores médios de lactato dos dois grupos, no tempo zero ( $p < 0,05$ ), assim como entre os tempos 30 e 60 do grupo Neoplasia ( $p < 0,01$ ). Embora não tenha sido possível estabelecer um factor de prognóstico neoplásico em gatos baseado na presença destas alterações, devido à impossibilidade de acompanhamento dos animais, foi possível encontrar semelhanças entre esta e outras espécies, sobretudo a Humana, permitindo classificar os animais em termos de grau de caquexia oncológica.

Palavras-chave: caquexia, gatos, neoplasia, metabolismo dos hidratos de carbono.

## Abstract

Cancer is an important disease in Veterinary Medicine. It affects dogs and cats of all ages and is now considered as one of the leading causes of death in these species (Withrow & Vail, 2007). In Veterinary Oncology, the presence of paraneoplastic syndromes is becoming highly frequent, leading to the need for a better patient follow up, one that would be similar to what is currently performed in Human Medicine.

The present work aimed at characterizing the changes in carbohydrate metabolism related to the development of cancer in cats when compared to healthy animals. The experimental protocol was based on a protocol previously validated for dogs with nonhematopoietic malignancies and lymphoma (Ogilvie *et al*, 1992; Ogilvie *et al*, 1997). Glucose, insulin, cortisol, epinephrine and lactate concentrations were determined at several time points for both groups. Changes in these parameters were analysed to assess any correlation between them and their diagnostic value for detecting an early phase of cancer cachexia. Their prognostic value for the two groups, of five cats each, was established. The cats were crossbred and had an average age of  $3,75 \pm 2,66$  years (mean  $\pm$  standard error) and  $9,6 \pm 2,97$  years (mean  $\pm$  standard error), for Control and Neoplasia, respectively. Their mean weight was  $3,74 \pm 0,70$  kg (mean  $\pm$  standard error) and  $4,7 \pm 1,58$  kg (mean  $\pm$  standard error), regarding the Control and Neoplasia group, respectively. Briefly, after a 12-hour fasting period, blood samples were taken at zero, 30 and 60 minutes after the administration of 500 mg of 30% glucose/kg of body weight IV. ANOVA was used to analyse the collected data. There was no significant difference between the weight of both groups ( $p > 0,05$ ). There was a significant difference between the age of both groups ( $p < 0,05$ ). Significant differences were found in mean glucose concentrations between the two groups for the pre-glucose time, as well as between times 30 and 60 minutes in the Neoplasia group ( $p < 0,05$ ); in mean cortisol concentrations between 30 and 60 minutes in the Neoplasia group ( $p < 0,01$ ); in mean insulin concentrations between 30 and 60 minutes in the Neoplasia group ( $p < 0,05$ ); and in lactate mean concentrations between groups for the pre-glucose time, as well as between times 30 and 60 minutes in the Neoplasia group ( $p < 0,01$ ). Although it wasn't possible to establish a prognostic value in cats to these changes, similarities were found between these results and the data reported for other species, especially for Humans in the same conditions. The changes measured also permitted to classify the cats in the Neoplasia group regarding their cachectic status.

**Key Words:** cachexia, cats, neoplasia, carbohydrate metabolism.



## Índice

Agradecimentos .....	iv
Resumo .....	vii
Abstract .....	viii
Abreviaturas .....	xv
Descrição das Actividades de Estágio .....	1
1. Introdução.....	4
2. Neoplasia .....	6
2.1. Conceitos gerais .....	6
2.2. O ciclo celular normal .....	7
2.3. Proteínas de supressão tumoral: p53 .....	9
2.4. Proto-oncogenes e oncogenes .....	12
2.5. Factores de crescimento.....	12
2.6. Factores de desenvolvimento de neoplasia.....	12
2.6.1. Factores endógenos.....	13
2.6.2. Factores exógenos .....	14
2.7. Carcinogénese: modelo em “cascata” .....	15
2.8. A Angiogénese .....	16
2.9. Metastização .....	18
2.10. Síndromes Paraneoplásicas.....	21
2.10.1. Manifestações endócrinas de neoplasia .....	23
2.10.2. Manifestações ósseas de neoplasia .....	23
2.10.3. Manifestações hematológicas de neoplasia.....	24
2.10.4. Manifestações cutâneas de neoplasia.....	25

2.10.5. Manifestações renais de neoplasia.....	26
2.10.6. Manifestações neurológicas de neoplasia .....	26
2.10.7. Manifestações gastrointestinais - Alterações gastrointestinais .....	26
2.10.8. Caquexia e anorexia.....	27
2.11. Alterações metabólicas encontradas na presença de neoplasia.....	32
2.11.1. Metabolismo proteico .....	32
2.11.2. Metabolismo lípidico .....	34
2.11.3. Metabolismo dos hidratos de carbono .....	35
2.11.4. Metabolismo da glucose e alterações nos níveis de insulina .....	37
3. Lactato.....	40
3.1. Definição e metabolismo do lactato .....	40
3.2. Hiperlactacidémia e Acidose láctica .....	41
3.3. Lactato como factor de prognóstico .....	42
3.4. Estudos sobre lactato em animais – Várias espécies.....	44
3.5. Estudos sobre lactato em animais - Gatos .....	49
4. Comparação entre alguns dos aparelhos medidores de lactato disponíveis no mercado .....	50
5. Estudo das alterações do metabolismo dos hidratos de carbono em gatos com neoplasia ..	53
5.1.....	Objectivo: ..... 53
5.2.Hipótese	nula (H0): ..... 53
5.3.Hipótese	Alternativa: ..... 53
5.4. Materiais e Métodos .....	54
5.4.1. Critérios de inclusão e critérios de exclusão .....	54
5.4.2. Critérios de inclusão e critérios de exclusão do grupo Controlo.....	54
5.4.3. Critérios de inclusão e critérios de exclusão do grupo Neoplasia.....	55

5.4.4. Administração endovenosa de Glucose a 30% .....	55
5.4.4. Recolha das amostras de sangue subsequentes e seu processamento.....	55
5.5. Análise Estatística .....	56
5.6. Apresentação dos resultados .....	57
5.6.1. População de estudo – Características .....	57
5.6.2. Glucose .....	58
5.6.3. Cortisol.....	59
5.6.4. Insulina.....	60
5.6.5. Adrenalina.....	61
5.6.6. Lactato .....	62
5.7. Discussão dos Resultados.....	63
6. Conclusão .....	71
Bibliografia.....	72

## Índice de Figuras

Figura 1: Pontos principais do ciclo celular..	9
Figura 2: O papel da p53 na manutenção da integridade genómica..	11
Figura 3: Factores que controlam a acumulação de mutações nas células cancerígenas.....	13
Figura 4: A cascata metastática. ....	20
Figura 5: Mecanismos da Caquexia Oncológica .....	30
Figura 6: Interações metabólicas entre o tumor e o hospedeiro.....	34
Figura 7: Diagrama representativo do metabolismo dos hidratos de carbono e das relações entre a glucose, o lactato e o piruvato.....	36
Figura 8: Dois dos gatos incluídos no grupo Neoplasia.....	55
Figura 9: Amostras e recolha de soro .....	56



## Índice de Tabelas

Tabela 1: Comparação entre tumores benigno e maligno .....	7
Tabela 2: Síndromes paraneoplásicas e tumores associados.....	22
Tabela 3: Factores essenciais na neoplasia.....	29
Tabela 4: Fases das alterações clínicas e metabólicas em pacientes oncológicos.....	31
Tabela 5: Características do Grupo Controlo .....	58
Tabela 6: Características do Grupo Neoplasia .....	58

## Índice de Gráficos

Gráfico 1: Comparação entre valores médios de glucose, nos tempos zero, 30 e 60 minutos, entre os grupos Controlo e Neoplasia. ....	59
Gráfico 2: Comparação entre valores médios de cortisol, nos tempos zero, 30 e 60 minutos, entre os grupos Controlo e Neoplasia.. ....	60
Gráfico 3: Comparação entre valores médios de insulina, nos tempos zero, 30 e 60 minutos, entre os grupos Controlo e Neoplasia.). ....	61
Gráfico 4: Comparação entre valores médios de adrenalina, nos tempos zero, 30 e 60 minutos, entre os grupos Controlo e Neoplasia.. ....	61
Gráfico 5: Comparação entre valores médios de lactato, nos tempos zero, 30 e 60 minutos, entre os grupos Controlo e Neoplasia. ....	62

## Abreviaturas

ADN	Ácido Desoxirribonúcleico
ADP	Adenosina Difosfato
AGNE	Ácidos Gordos Não Esterificados
ATP	Adenosina Trifosfato
CID	Coagulação Intravascular Disseminada
CMF	Carcinoma Mamário Felino
dL	Decilitros
FCVE	Factor de Crescimento Vascular Endotelial
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
ICC	Índice de Condição Corporal
IGF-I	<i>Insuline-like Growth Factor I</i>
IL-1	Interleucina-1
IL-6	Interleucina-6
kg	Quilograma
L	Litro(s)
LDH	Lactato Desidrogenase
mg	Miligrama
mmol	Milimole(s)
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamida Adenina Dinucleótido (forma oxidada)
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleótido (forma reduzida)
PDH	Piruvato Desidrogenase
PTH	Paratormona
p.v.	Peso Vivo
TDG	Torção/Dilatação Gástrica
TMS	Tempo Médio de Sobrevivência
TNF- $\alpha$	<i>Tumor Necrosis Factor <math>\alpha</math> (alpha)</i> / Factor de Necrose Tumoral $\alpha$ (alfa)
VDM	Valores de Densidade Microvascular
$\gamma$ IFN	$\gamma$ <i>Interferon</i> / Interferão $\gamma$ (gama)



## **Descrição das Actividades de Estágio**

O estágio curricular foi realizado na área de Medicina e Cirurgia de Animais de Companhia, entre os dias 20 de Outubro de 2008 e 6 de Março de 2009, no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa (FMV-UTL), num total de aproximadamente 1008 horas.

A aluna estagiária dividiu o número total de horas pelos diferentes serviços do Hospital Escolar, segundo a escala a si atribuída, que incluíram a Medicina Interna, Cirurgia, Imagiologia e Internamento.

### **Serviço de Medicina Interna**

No serviço de Medicina Interna, a aluna participou nas consultas externas, dando início a estas, através da elaboração da história pregressa e realização do exame físico completo. Na fase seguinte, a aluna acompanhou o Clínico responsável, tentando tomar parte activa na escolha do plano diagnóstico e abordagem terapêutica. Dentro do plano diagnóstico, colaborou sempre que necessário e possível, na realização dos diversos exames complementares de diagnóstico, assim como nos procedimentos clínicos como colocação de catéteres endovenosos, colheitas de sangue para análises sanguíneas, aplicações de injectáveis, raspagens cutâneas e observação das mesmas, colheita de pêlos para pesquisa de dermatófitos, electrocardiogramas, testes rápidos de diagnóstico, entre outros.

### **Serviço de Cirurgia**

No Serviço de Cirurgia, a aluna acompanhou alguns casos com indicação cirúrgica, desde o momento da admissão no hospital até ao internamento pós-cirúrgico. A aluna desempenhou funções de anestesista e circulante. Para além das funções desempenhadas durante o período pré- e intra-cirúrgico, a aluna participou também no acompanhamento pós-cirúrgico, ajudando na realização de pensos e remoção de pontos.

### **Serviço de Imagiologia**

No Serviço de Imagiologia, a aluna participou na realização, revelação e interpretação de diversos exames radiográficos, tomografias axiais computadorizadas (TACs) e exames ecográficos.

### **Serviço de Internamento de Medicina e Cirurgia**

A aluna realizou catorze turnos de 24 horas de duração, no internamento do Hospital Escolar, cumprindo um total de 332 horas. O desempenho da aluna foi supervisionado pelos clínicos responsáveis pelo internamento em cada dia. Faziam parte das suas competências, monitorizar a evolução clínica dos pacientes internados, prestação de cuidados intensivos e administração dos tratamentos, de acordo com a organização estipulada e em cooperação com os diferentes serviços do hospital. Para além dos cuidados clínicos, competia-lhe também garantir os cuidados básicos e a alimentação dos animais internados.

### **Estudo das Alterações do Metabolismo de Hidratos de Carbono em Gatos com Neoplasia**

Paralelamente às actividades realizadas durante o estágio, a aluna estagiária procurou realizar um estudo cujo objectivo foi o de caracterizar as alterações metabólicas em pacientes oncológicos, mais especificamente, em gatos. Para este fim, estabeleceu um protocolo experimental, com o auxílio do seu Orientador, Dr. Nuno Félix. O protocolo destinou-se a estudar uma população de gatos que se apresentaram no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, com algum tipo de neoplasia, tendo sido analisados vários parâmetros fisiológicos.

A realização do estudo prolongou-se para além do tempo definido de estágio curricular, devido ao reduzido número de animais com as características necessárias e implicou visitas ao Hospital Escolar da FMV até Janeiro do presente ano.

A aluna colaborou também, num estudo paralelo e idêntico realizado em canídeos com osteossarcoma.

### **Estágio Extra-Curricular**

Para além do estágio curricular, a aluna realizou um estágio extra-curricular com a equipa de Medicina de Pequenos Animais do Department of Clinical Veterinary Science, na Universidade de Bristol, no Reino Unido, entre os dias 23 de Março e 17 de Abril de 2009, num total de 240 horas.

A aluna estagiária repartiu o número total de horas pelos diferentes serviços do Departamento da Universidade de Bristol, nomeadamente Medicina Interna, Cuidados Intensivos, Internamento e Imagiologia. A aluna foi incluída nas escalas dos alunos do 5º ano, tendo realizado o mesmo tipo de funções e procedimentos que realizou no estágio curricular.

A estrutura deste Departamento passa por receber casos encaminhados por outras clínicas ou

hospitais pois é uma área de referência, não realizando primeiras consultas ou consultas de rotina.

Os alunos recebiam os pacientes, faziam a recolha da história pregressa, o exame físico completo e apresentavam o caso ao clínico responsável. De seguida, eram discutidos os diagnósticos diferenciais e traçado o plano diagnóstico. A segunda parte da consulta era realizada pelo Clínico. Por fim, o paciente era levado para a sala de procedimentos para possível recolha de sangue, urina, colocação de catéter endovenoso, entre outros. Conforme o estado do paciente, este era encaminhado para o Internamento normal ou para os Cuidados Intensivos. Os pacientes eram monitorizados de 4 em 4 horas, através da realização obrigatória de exame físico. Nos casos indicados, era realizada a medição da pressão arterial e administração de medicamentos, a alimentação, passeio e verificação da fluidoterapia. Todos os dias, eram feitas as rondas matinal e de fim de tarde, sendo a primeira discutida numa reunião com a participação exclusiva dos clínicos e a segunda, discutida com os alunos. Os alunos que estivessem de chamada nessa noite, apresentavam os casos aos Clínicos.

Para além dos habituais serviços de radiologia e ecografia, eram também realizadas endoscopia (com recolha de amostras), TAC, ressonância magnética e fluoroscopia.

Neste estágio extra-curricular, para além de procedimentos que já havia realizado no estágio curricular, a aluna participou nas endoscopias, fluoroscopias e aprendeu a medir a pressão arterial, assim como a fazer recolha de sangue da veia jugular.

A aluna visitou também, após o estágio extra-curricular na Universidade de Bristol, a Clínica Zetland Veterinary Group, em Bristol, Reino Unido, entre 20 e 29 de Abril de 2009. Nesta clínica, a aluna observou a estrutura das primeiras consultas, consultas de acompanhamento pós-cirúrgico, de rotina, assim como cirurgias e procedimentos clínicos.

## 1. Introdução

A neoplasia constitui em Medicina Veterinária uma afecção de extrema importância, afectando cães e gatos de todas as idades e constituindo uma das principais causas de morte nestas espécies (Withrow & Vail, 2007). A Oncologia estabeleceu-se como uma área de interesse e preocupação crescente, exaltando a necessidade de compreender os processos que envolvem o desenvolvimento neoplásico em Animais de Companhia.

Em Medicina Humana, tal como em Medicina Veterinária, os pacientes desenvolvem frequentemente complicações secundárias à existência de neoplasia, as chamadas síndromes paraneoplásicas. Estas constituem o conjunto de alterações estruturais ou funcionais, que são consequência dos efeitos metabólicos de uma neoplasia sobre tecidos distantes do local primário (Withrow & Vail, 2007).

As alterações dos metabolismos dos hidratos de carbono, proteínas e lípidos representam, em Seres Humanos, a base para uma das síndromes paraneoplásicas mais comuns, a caquexia oncológica (Tisdale, 1999; Bosaeus, Daneryd & Lundholm, 2002; Baez, Michel, Sorenmo & Shofer, 2007). Na ausência de sinais clínicos evidentes, a existência deste tipo de alterações constitui uma fase precoce da caquexia oncológica (Case, Carey, Hirakawa & Daristotle, 2000; Hand *et al*, 2000), em que pode e deve ser iniciado um tratamento direccionado para o controlo da neoplasia e suas complicações.

O estudo de parâmetros relacionados com estes metabolismos permitiu tanto em Seres Humanos como em cães e equinos, estabelecer factores de prognóstico indicadores de recorrência e de variações nas taxas de morbilidade e mortalidade. Além disso, permitiu também estabelecer a evolução da caquexia oncológica em termos clínicos e laboratoriais.

Nesta dissertação foram descritas as considerações gerais sobre o estabelecimento e evolução neoplásica, com o intuito de enquadrar o tema principal sobre o qual recai, as alterações metabólicas que acontecem em gatos com diversos tipos de neoplasias. Tendo sido definidos como objectivos a avaliação de diferentes parâmetros relativos ao metabolismo dos hidratos de carbono (cortisol, lactato, insulina e glucose), de forma a determinar se, numa população de gatos com neoplasia, estes apresentavam alterações, quando comparados com uma população de gatos saudável e isenta de neoplasia. Ao mesmo tempo que se procurou confirmar a existência destas alterações, pensadas como indicadores das fases iniciais da caquexia oncológica, o estudo debruçou-se particularmente sobre o parâmetro lactato. Este estudo experimental teve ainda como segundo objectivo, procurar estabelecer se os parâmetros medidos poderiam ser considerados indicadores de prognóstico em gatos com neoplasia.

O protocolo experimental baseou-se em protocolos experimentais desenvolvidos no âmbito de pesquisas anteriores realizadas por autores da área de Oncologia Veterinária, que haviam incidido maioritariamente em cães.

O tema escolhido surgiu no âmbito do interesse em Oncologia Veterinária e focalizou-se em gatos, devido ao reduzido número de estudos a que esta espécie tem sido sujeita nas diversas áreas e mais especificamente, na área de Oncologia.



## 2. Neoplasia

### 2.1. Conceitos gerais

Como tumor, entende-se todo o tipo de tecido celular cujo crescimento é mais rápido do que o considerado normal e que se mantém mesmo após cessação do estímulo inicial para o seu crescimento, sem que tenha um objectivo fisiológico útil. Os tumores podem ser classificados de várias formas, incluindo a distinção entre tumor benigno e maligno (McGavin & Zachary, 2007).

A distinção entre tumor benigno e maligno, baseia-se sobretudo, na presença dos chamados factores de malignidade, incluindo a capacidade de invasão local, angiogénese e metastização, entre outros (Tabela 1). Assim, um tumor benigno consiste num conjunto de células anormais, unidas sob a forma de uma massa única, que embora possa comprimir os tecidos adjacentes, não os invade, permitindo uma remoção cirúrgica completa. Um tumor maligno é constituído por células que possuem a capacidade de invadir os tecidos adjacentes, de penetrar nas correntes sanguínea e linfática e de formar tumores secundários em outros locais para além do local primário. Os últimos recebem a denominação de metástases (Ettinger & Feldman, 2009).

Segundo a sua origem, os tumores podem ser classificados em 4 categorias:

1. Origem mesenquimatosa, como os originários dos tecidos fibroelásticos, ósseos, adiposos, sanguíneos e do tecido linfóide, podendo ser classificados em benignos ou malignos. Os tumores malignos recebem o sufixo –sarcoma, seguido do nome característico do tecido que lhe deu origem (ex.: fibrossarcoma para tumor maligno de origem fibroso);
2. Origem epitelial, também de origem benigna ou maligna. Os de origem maligna são denominados de carcinomas. Os tumores epiteliais podem ter origem no tecido glandular ou de órgãos como o estômago, útero ou pele;
3. Origem mista, os quais contêm diferentes tipos de células (ex.: adenoma da glândula mamária para tumor benigno e adenocarcinoma para tumor maligno das glândulas salivares, pois nestes casos, têm origem no epitélio e mioepitélio);
4. Origem nervosa, como os originários dos tecidos nervosos quer a nível central, quer a nível periférico (ex: ganglioneuroma para tumor benigno dos neurónios do sistema nervoso periférico) (McGavin & Zachary, 2007).

**Tabela 1:** Comparação entre tumores benigno e maligno (adaptado de McGavin & Zachary, 2007).

<b>Característica</b>	<b>Benigno</b>	<b>Maligno</b>
Diferenciação	Aparência bem diferenciada  Estrutura semelhante à do tecido de origem  Pouca ou nenhuma anaplasia	Normalmente, alguma perda de diferenciação celular  Estrutura frequentemente atípica  Grau variável de anaplasia
Taxa de crescimento	Lento, expansão progressiva  Figuras mitóticas raras  Figuras mitóticas de aparência normal	Crescimento lento a rápido; taxa de crescimento errática  Figuras mitóticas frequentemente numerosas e por vezes, anormais
Invasão local	Sem invasão  Crescimento coesivo e expansivo  Cápsula frequentemente presente	Invasão local  Crescimento infiltrativo  Usualmente sem cápsula
Metástases	Sem metástases	Metastização frequente (critério definitivo de malignidade)

## 2.2. O ciclo celular normal

A proliferação celular acontece por dois meios, a meiose e a mitose. A meiose é responsável pela formação dos gametas. As células somáticas realizam a proliferação celular por um acontecimento sequencial de mitose e citocinese, correspondendo a primeira, a uma divisão celular e segunda, à divisão do núcleo. Antes de ocorrer a divisão nuclear é necessário que ocorra duplicação do material genético, o que acontece na fase de interfase e que, por sua vez, se divide em três outras fases, a  $G_1$ ,  $G_2$  e  $S$ . Entre a mitose e o início da interfase existe ainda a fase  $G_0$ , na qual as células se encontram no estado não-proliferativo (Figura 1). A alternância entre a interfase e a mitose constitui o chamado ciclo celular, que dura entre 12 e 24 horas (Withrow & Vail, 2007).

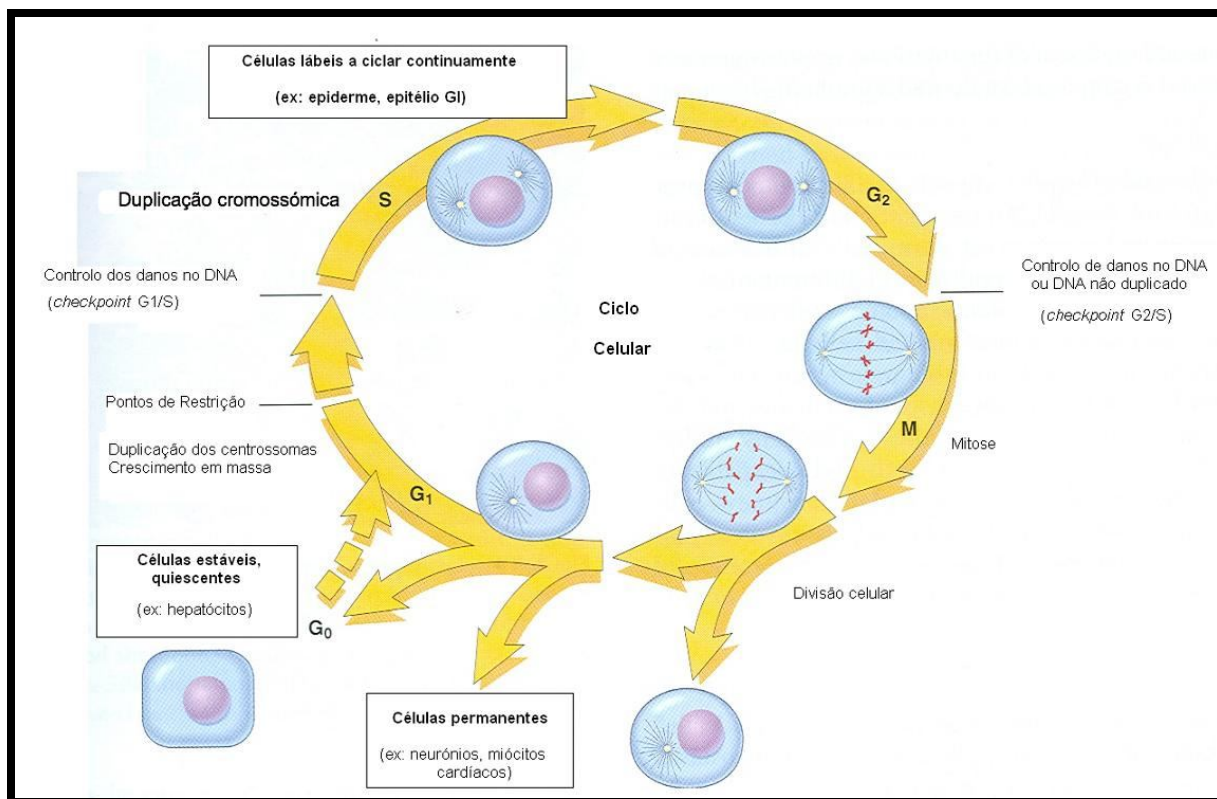
O ciclo celular está sujeito a estímulos realizados por factores externos, como factores de crescimento e moléculas de adesão celular. A progressão ao longo do ciclo celular é mediada

por cinases dependentes das ciclinas, as quais regulam os *checkpoints* que controlam os sinais mitogénicos e os inibitórios. Estes últimos, estão relacionados com os ribossomas, sendo graças a estas, que a maioria das células não se divide indefinidamente. Pelo contrário, estas apresentam uma taxa fixa quanto ao número de divisões celulares, que termina com a morte celular programada ou apoptose. A apoptose constitui um processo que envolve a reorganização celular, seguida de fragmentação e de fagocitose e pode acontecer precocemente devido a lesões celulares, tais como stress, lesões no ADN ou depleção de oxigénio, processos que possam levar a uma extensão lesional tal, que não permitam a sua reparação (Withrow & Vail, 2007).

A capacidade de evitar mecanismos citostáticos, estados pós-mitóticos e de diferenciação terminal, juntamente com a destruição dos ribossomas, permite à célula continuar a sua proliferação indefinidamente (Braunwald, Kasper, Hauser, Longo & Jameson, 2002; Withrow & Vail, 2007).

A evasão à apoptose é uma das características de todo o tipo de neoplasias e é realizado, entre outros, através da perda de função da proteína p53. Por outro lado, o potencial de replicação ilimitado conferido pela manutenção dos telómeros por parte da enzima telomerase, que garante a replicação contínua do ADN, associa-se a todos os outros factores. Ambos permitem o estabelecimento de um ambiente adequado ao crescimento, atendendo às necessidades de nutrição e escapando às defesas anti-tumorais do hospedeiro (Braunwald *et al*, 2002; Withrow & Vail, 2007).

**Figura 1:** Pontos principais do ciclo celular. A figura mostra as fases celulares ( $G_0$ ,  $G_1$ ,  $G_2$ , S e M), a localização do ponto de restrição de  $G_1$  e os *checkpoints* celulares  $G_1/S$  e  $G_2/M$ . As células de tecido lábeis, como as epidérmicas e gastrointestinais, podem realizar o ciclo continuamente. As células estáveis, como os hepatócitos, são quiescentes mas podem entrar no ciclo celular. As células permanentes, tais como os neurónios e os cardiomiócitos, perdem a capacidade de proliferar (adaptado de Pollard & Earnshaw, 2002).



### 2.3. Proteínas de supressão tumoral: p53

Um dos marcadores de resposta a lesões endógenas ou exógenas do ADN por stress, é a proteína p53, que desempenha um papel importante na manutenção da estabilidade genómica. A p53, incluída nos genes de supressão tumoral, é uma das proteínas mais estudadas que regulam os *checkpoints* relacionados com os danos no ADN (Levine, 1997; Withrow & Vail, 2007). A p53 conduz à transcrição de vários genes, processo que culmina com a paragem do ciclo celular em  $G_1$ . Esta paragem temporária tem como objectivo permitir a reparação do ADN danificado, impedindo a sua replicação (Withrow & Vail, 2007).

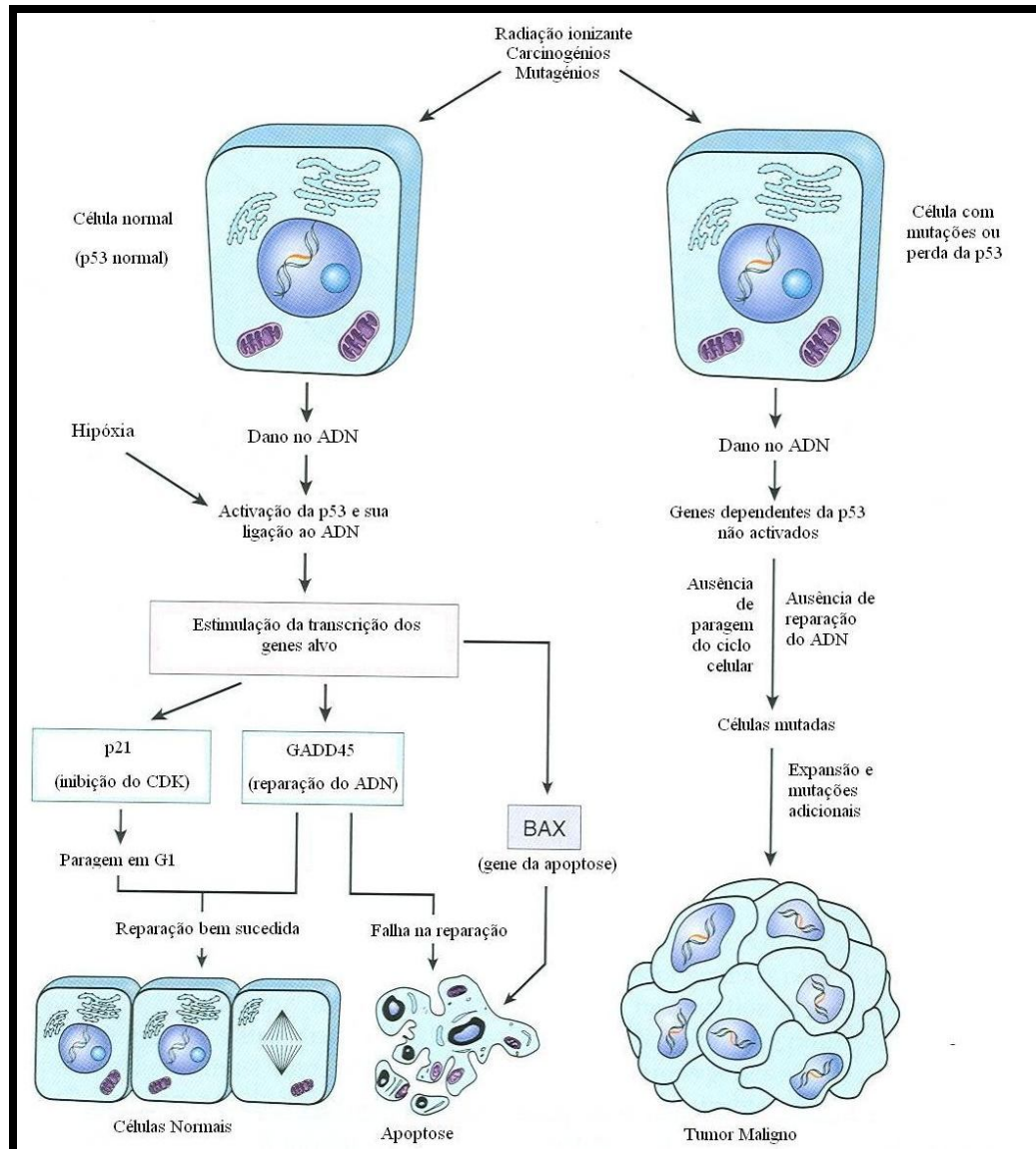
Na ausência de lesões no ADN, a p53 encontra-se na forma desfosforilada e tem um tempo de vida curto. Ao detectar lesões no ADN ou na presença de hipóxia, a p53 adquire uma forma activada, estabilizada através de fosforilação. Esta proteína funciona como regulador da transcrição de sequências, transactivando vários genes (Levine, 1997).

Através de uma sequência de acontecimentos celulares, o ciclo é suspenso em G1, evitando que ocorra replicação de ADN danificado, ao mesmo tempo que a célula tem a oportunidade de reparar os lesões antes das fases de crescimento celular. Os níveis celulares de p53 são regulados negativamente pelo produto de outro gene, que evita a paragem do ciclo em G1 e a actividade transcricional de p53. Assim, a p53 tem a capacidade de suspender o ciclo celular ou escolher a apoptose, dependendo do nível de dano que o ADN sofreu (figura 2). A inactivação da p53, pode levar a crescimento celular descontrolado, conduzindo em última instância, a transformação tumoral (Braunwald *et al*, 2002).

Em neoplasias humanas, foi demonstrado a inactivação do gene que codifica a p53, com perda da sua função através de mutações e menos frequentemente, através de mecanismos não mutacionais. Genes homólogos da p53 foram encontrados nos animais domésticos e vários estudos indicam que este gene desempenha também neles, um papel central na progressão da neoplasia em animais (Braunwald *et al*, 2002).

Estudos de Lee e Kweon (2002) e Lee e colaboradores (2004) mostraram que em cães, a mutação do gene p53 é um sinal de potencial maligno aumentado e um mau factor de prognóstico para os tumores da glândula mamária. Foi referido que no caso dos carcinomas da glândula mamária canina, cerca de 17% apresentavam mutação do gene p53 (Lee & Kweon, 2002; Lee *et al*, 2004).

**Figura 2:** O papel da p53 na manutenção da integridade genómica. Os danos no ADN ou a hipóxia activam a p53 normal, conduzindo a uma paragem em G<sub>1</sub> e indução da reparação do DNA por regulação da p21 e GADD45, respectivamente. A reparação bem sucedida permite às células continuar o seu ciclo. Se a reparação falha, a proteína BAX promove a apoptose. Em células com perda ou mutação da p53, os danos no ADN não induzem a paragem do ciclo ou a reparação do erro. As células danificadas geneticamente proliferam e poderão conduzir ao desenvolvimento de uma neoplasia (adaptado de Kumar, Abbas & Fausto, 2005).



## **2.4. Proto-oncogenes e oncogenes**

Os proto-oncogenes são um grupo de genes de grande importância, responsáveis pela amplificação da síntese do ADN e pelo crescimento e divisão celulares (Withrow & Vail, 2007). Estes genes são necessários durante o crescimento do indivíduo, tendo no adulto, como principal função permitir o crescimento de novas células que vão substituir as antigas ou danificadas. No seu estado nativo não possuem o potencial de transformação maligna. No entanto, caso ocorra a sua activação através de uma mutação, transformam-se em oncogenes e fazem com que as células cresçam e se dividam infinitamente (Anderson, Reynolds, You & Maronpot, 1992).

## **2.5. Factores de crescimento**

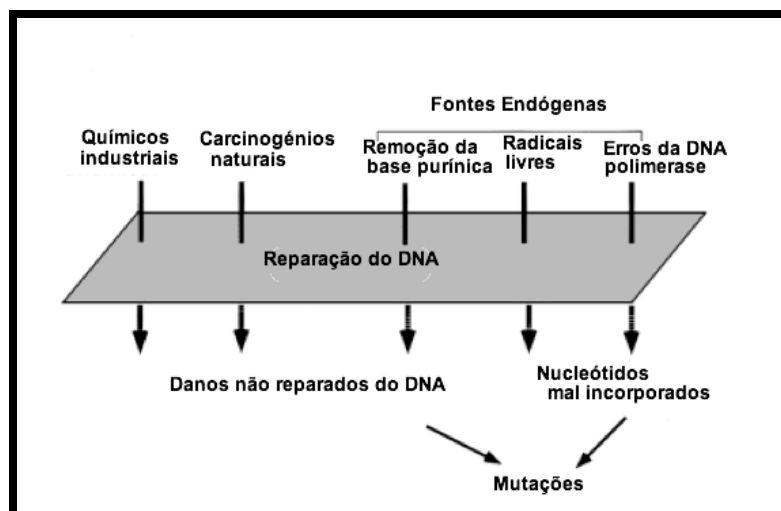
Para além dos proto-oncogenes e genes supressores tumorais, também os factores de crescimento exercem um papel importante durante a carcinogénese. Os factores de crescimento são moléculas que actuam através de receptores celulares de superfície (Withrow & Vail, 2007). A activação autócrina e/ou respostas a determinados factores (como mutações) podem levar a uma sobreprodução destes ou mesmo à sua produção por células que normalmente não o fazem (Todorova, 2006).

Em conclusão, a inactivação de genes supressores de tumores ou a activação de oncogenes, assim como alterações noutros genes responsáveis pela correcção de ADN danificado ou pela apoptose estão entre as principais causas da transformação de células normais em cancerígenas (Spandidos, 1985; Anderson *et al*, 1992; Hainaut *et al*, 1997).

## **2.6. Factores de desenvolvimento de neoplasia**

Existem vários factores capazes de influenciar e desencadear o desenvolvimento de uma neoplasia, nomeadamente, factores endógenos e exógenos (figura 3). Na primeira categoria incluem-se factores genéticos, imunitários e hormonais. Na segunda, factores ambientais, como agentes virais, químicos e físicos.

**Figura 3:** Factores que controlam a acumulação de mutações nas células cancerígenas. Uma série de agentes têm o potencial de danificar o ADN. As mutações são normalmente provocadas por danos no ADN que escapam aos vários mecanismos de reparação do ADN. Existe um equilíbrio dinâmico entre os danos e a reparação do ADN. Este encontra-se alterado nas células cancerígenas (adaptado de Loeb & Loeb, 2000).



### 2.6.1. Factores endógenos

Os defeitos genéticos hereditários conduzem ao desenvolvimento de neoplasias em animais mais jovens, contrariamente às neoplasias desencadeadas por factores exógenos, que se manifestam normalmente numa idade mais avançada (Todorova, 2006). Os defeitos genéticos hereditários são, na sua grande maioria, mutações focais, devido a inactividade dos genes que controlam a supressão tumoral ou à presença de oncogenes activos no sémen ou óvulo. Pouco se sabe sobre a influência dos factores hereditários no aparecimento de neoplasias em cães e gatos. Os estudos realizados até ao momento deram resultados controversos. Por exemplo, segundo alguns autores, existem genes herdados mutados que determinam a neoplasia mamária em cães (Schafer *et al*, 1998). Porém, Lloyd e colaboradores, em 2005 (citado por Todorova, 2006) contrariaram estes dados, afirmando a ausência de informações claras sobre a herança genética na neoplasia mamária canina.

O sistema imunitário tem como uma das suas múltiplas funções, identificar e eliminar as células que tenham sofrido algum tipo de transformação que lhes confira características cancerígenas. Os animais imunossuprimidos, quando expostos a agentes carcinogénicos apresentam maior risco de desenvolvimento de neoplasia (Todorova, 2006).

As hormonas são outro factor endógeno que desempenha um papel importante no



desenvolvimento de numerosos tipos de neoplasias (Todorova, 2006). Em animais adultos, as hormonas controlam o crescimento celular nas várias fases do ciclo reprodutivo tanto em machos como em fêmeas. Na presença de oncogenes activados ou genes supressores de tumores inactivados, as hormonas são factores capazes de estimular a divisão e algumas características carcinogénicas em células anormais. Assim, supõe-se que a estimulação excessiva de certos órgãos por hormonas, aumente a probabilidade de desenvolvimento de neoplasia. São disso exemplo, as hormonas estrogénio e progesterona no caso dos tumores mamários caninos (Rodney & Page, 2001).

### **2.6.2. Factores exógenos**

A transformação maligna de células normais por vírus tumorais implica um passo inicial de integração de parte ou totalidade de ADN viral no genoma da célula hospedeira. No caso de alguns vírus, foram identificados oncogenes que levam a transformação maligna quando são expressos em células normais. Outros vírus, através do processo de integração, activam a expressão de genes celulares normais, conduzindo a sobreexpressão ou inactivação de genes, resultando em transformação ou crescimento descontrolado celular (Withrow & Vail, 2007).

Ao contrário das infecções virais que estão associadas a várias neoplasias específicas, os carcinogénios químicos estão relacionados com o desenvolvimento de quase todos os tipos de neoplasias (Loeb & Loeb, 2000). Há dois tipos de carcinogénios químicos, os directos e os indirectos (pró-carcinogénios). Estes últimos, comparativamente com os primeiros, necessitam de uma activação metabólica por enzimas normalmente presentes na célula, de forma a tornar-se carcinogénicos (Todorova, 2006). A activação indirecta ocorre normalmente aquando do processo fisiológico de eliminação de substâncias tóxicas através da corrente sanguínea. As substâncias insolúveis têm de ser convertidas numa forma solúvel, para que se realize a sua eliminação. Esta transformação ocorre normalmente a nível do fígado.

A transformação química destes processos tem uma duração variável de acordo com o tipo de substância, o que poderá levar à acumulação de metabolitos tóxicos. Estes podem conduzir a alterações do ADN, antes de serem removidos do organismo. A exposição de cães a herbicidas usados em jardinagem, por exemplo, é um dos factores de risco confirmados para o desenvolvimento de carcinoma da bexiga (Withrow & Vail, 2007).

Os carcinogénios físicos, onde se incluem a radiação (ultravioleta e ionizada), corpos estranhos e hipertermia, podem provocar alterações no ADN muito difíceis de corrigir, tais como quebra ou alterações de ligações (Withrow & Vail, 2007). Estudos realizados em

animais, permitiram constatar a influência destes factores. McEntee e colaboradores (2004) verificaram, através de um estudo retrospectivo, o desenvolvimento de um segundo tumor em 2 animais de uma população de 56 cães, submetidos a radioterapia para tratamento de epulides. A taxa de incidência deste estudo ficou abaixo de dados de outro estudo realizado por Theon e colaboradores (1997), em cães com doença periodontal submetidos também a tratamento com radiação. A ligação entre a existência de uma lesão crónica e o desenvolvimento posterior de neoplasia, foi feita por Bernays, Flemming e Peiffer (1999), quando estudaram 4 cães que desenvolveram tumores da córnea após lesões inflamatórias crónicas.

## **2.7. Carcinogénese: modelo em “cascata”**

O desenvolvimento de uma neoplasia constitui o resultado final de uma sequência de eventos, genéticos e não genéticos, durante um período de tempo mais ou menos longo (McGavin & Zachary, 2007). Sabe-se actualmente que, um agente carcinogénico não conduz de imediato à transformação de uma célula normal em cancerígena, mas sim, a uma cascata de reacções denominada carcinogénese (Braunwald *et al*, 2002; Withrow & Vail, 2007).

O modelo em cascata ou de *iniciação, promoção e progressão* descreve a progressão sequencial de uma neoplasia, reconhecendo a complexidade e implicações genéticas desta doença através de três passos fundamentais (Withrow & Vail, 2007).

O passo inicial denomina-se *iniciação* e caracteriza-se pela alteração do material genético da célula de forma irreversível, conferindo-lhe características de crescimento específicas, tais como a capacidade de evasão à apoptose ou uma capacidade de sobrevivência superior à das outras células. Apesar de o evento característico da fase de iniciação ocorrer normalmente num curto período de tempo, as células apresentam uma aparência morfológica normal, podendo manter-se quiescentes durante vários anos.

Ao período de iniciação, segue-se um período de *promoção*. Nesta fase ocorre uma segunda mutação (ou uma série de mutações) nas células previamente iniciadas, em resposta a um estímulo selectivo. O estímulo selectivo é denominado promotor e independentemente da sua natureza, irá causar alterações que podem ser revertidas. A promoção irá constituir um método de expansão da população celular iniciada, alterando o seu fenótipo de forma a que, aumente a probabilidade de ocorrência de outra alteração irreversível no genoma (Braunwald *et al*, 2002; McGavin & Zachary, 2007; Withrow & Vail, 2007).

A fase final denomina-se período de *progressão*, sendo caracterizada pela actuação de agentes capazes de desenvolver um fenótipo maligno irreversível no ambiente celular já afectado pelas fases anteriores. Desta forma, o carácter maligno aumenta progressivamente através de alterações no genoma, na velocidade de crescimento, na capacidade invasiva e de metastização. No entanto, sabe-se que, para que esta fase ocorra, é necessário um evento de maior proporção, tal como a ocorrência de uma translocação cromossómica. Apesar de tudo e sendo o período de progressão um processo lento, o desenvolvimento de doença clínica poderá não ocorrer em tempo de vida útil do hospedeiro e existir num estado subclínico (Braunwald *et al*, 2002; McGavin & Zachary, 2007; Withrow & Vail, 2007).

Cada um dos passos anteriormente descritos, compreende alterações genéticas, que irão ser sujeitas a um processo de selecção adaptativa, com formação de uma célula extremamente maligna. Sabe-se actualmente que são necessários entre 4 a 6 passos para que uma célula desenvolva um fenótipo considerado maligno. Estes passos incluem:

- (1) crescimento auto-suficiente;
- (2) insensibilidade aos sinais anti-proliferativos;
- (3) capacidade de evasão à apoptose;
- (4) potencial de replicação ilimitado;
- (5) manutenção da angiogénese;
- (6) a capacidade de invadir os tecidos e metastizar (Braunwald *et al*, 2002; Withrow & Vail, 2007).

É raro que estes diferentes requisitos resultem da modificação de um único gene. Em regra geral, são precisos vários genes mutados, na mesma e/ou em diferentes células, para que estes requisitos sejam atingidos (Withrow & Vail, 2007). Por outro lado, sabe-se também que, cada um destes passos é regulado por numerosos ciclos bioquímicos, onde intervêm uma miríade de factores e substâncias, pelo que vários tipos de mutações podem conduzir a fenótipos semelhantes (Braunwald *et al*, 2002; Withrow & Vail, 2007).

## **2.8. A Angiogénese**

A angiogénese é um processo complexo que envolve a formação de novos capilares a partir de vasos sanguíneos pré-existentes, a proliferação de células endoteliais e a sua migração através da matriz extracelular, a maturação e diferenciação da nova rede capilar (McGavin & Zachary, 2007). Segundo Folkman, em 1995, esta é importante tanto em processos fisiológicos como patológicos (citado por Withrow & Vail, 2007). Em tecidos saudáveis, a

proliferação endotelial é controlada por um equilíbrio entre os factores que activam as células endoteliais (factores de crescimento) e aqueles que antagonizam a sua acção (Withrow & Vail, 2007). Cada célula endotelial divide-se a cada 10 anos, pelo que, a angiogénese activa é apenas necessária a nível fisiológico, em casos como cicatrização de feridas, proliferação endometrial, formação do corpo lúteo e involução da glândula mamária após lactação e gestação (Vaisman, Gosdoparowicz & Neufeld, 1990).

A angiogénese requer a estimulação da proliferação de células endoteliais vasculares através da libertação de péptidos angiogénicos, dos quais o factor de crescimento vascular endotelial (FCVE) é o mais potente (Millanta *et al*, 2006). Demonstrou-se que o FCVE se encontra envolvido na permeabilidade vascular, migração e proliferação de células endoteliais e na maturação vascular (Millanta *et al*, 2006). Tanto a angiogénese fisiológica como a patológica são dependentes da actividade do FCVE (Ferrara & Davis-Smyth, 1997).

Os tumores malignos produzem substâncias que sinalizam as células endoteliais de forma a que estas sobrevivam para além do seu tempo de vida programado e que possuam maior mobilidade e capacidades invasiva, de diferenciação e organização (Withrow & Vail, 2007). Estas características irão ser necessárias para a criação de uma vasculatura de suporte para o tumor, sem a qual, qualquer tecido sólido não tem a capacidade de crescer para além de 2 mm de diâmetro (McGavin & Zachary, 2007). Para a criação destes novos vasos sanguíneos é necessário o recrutamento de células endoteliais em circulação e estimulação das existentes no tecido normal adjacente. A angiogénese permite assim, a proliferação de endotélio vascular e crescimento de vasos sanguíneos no tumor e a posterior metastização (Vaisman *et al*, 1990; Withrow & Vail, 2007).

Em Oncologia Veterinária, o papel da angiogénese e a sua relação com o comportamento biológico de tumores, como é o caso dos mamários, encontra-se pouco documentada (ver acima). Sabe-se no entanto, que os valores de densidade microvascular (VDM) são significativamente mais elevados em lesões malignas do que em benignas, com os valores mais elevados, observados em tipos histológicos mais anaplásicos (Griffey *et al*, 1998; Restucci, Vico & Maiolino, 2002).

Millanta e colaboradores (2002) realizaram o primeiro estudo sobre a angiogénese em carcinoma mamário felino (CMF), analisando a sua relação com o curso clínico da doença. Neste estudo, a expressão do FCVE foi detectada em todos os carcinomas investigados e estava significativamente relacionada com ambos os tipos histológicos e estadiamento tumoral. A produção de FCVE foi significativamente mais elevada em gatas com prognóstico reservado tal como verificado em Seres Humanos (Gasparini, 2000), sugerindo um papel importante no desfecho clínico dos CMFs. Os resultados deste estudo demonstraram também

a existência de uma correlação entre a expressão de FCVE e o prognóstico final, embora não tenha sido encontrada uma relação entre este e os parâmetros de VDM. Estes resultados aparentemente inconsistentes podem ser o resultado de vários factores, descritos por Fox e colaboradores e Obermair e colaboradores, em 1995 (citado por Millanta *et al*, 2002) e Weidner, em 1998 (citado por Millanta *et al*, 2002) como variabilidade intra- ou inter-observador, a tendência para a selecção da área de neovascularização mais intensa ou a existência de heterogenidade da distribuição vascular em tecido neoplásico, o que exige um número maior de campos examinados para serem obtidos resultados com valor estatístico ou finalmente a existência de bases de dados de pacientes heterogéneas.

## 2.9. Metastização

A metastização consiste num processo de disseminação da doença de uma localização para outra, à qual não está directamente ligado. Este processo pode realizar-se através das circulações sanguínea e/ou linfática e vai constituir novos focos de doença (Withrow & Vail, 2007). Como tal, a presença de metástases verifica-se com maior incidência em órgãos intensamente irrigados, como os pulmões ou fígado.

O risco de progressão metastática é em parte definido pela genética do indivíduo, já que as alterações genéticas podem desenvolver-se precocemente durante o crescimento tumoral e conduzir ao aparecimento de células metastáticas agressivas.

A invasão dos vasos sanguíneos e linfáticos pelas células tumorais, denominada intravasão, é auxiliada pela produção de diversas enzimas, especialmente collagenases que em conjunto com uma grande variedade de outras proteases são capazes de lisar os componentes da membrana basal e o tecido conjuntivo (Withrow & Vail, 2007).

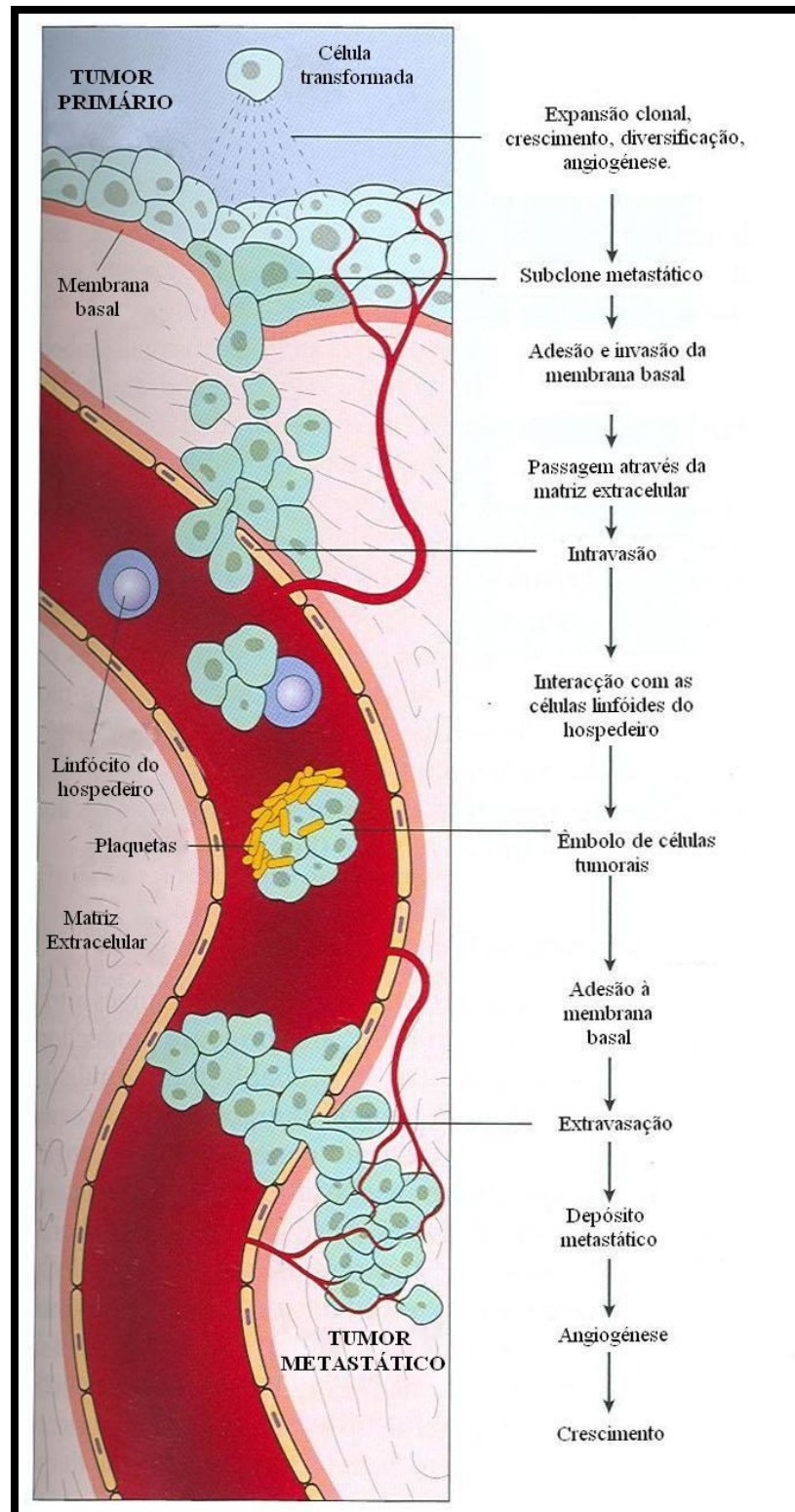
Após a intravasão, as células tumorais têm de ser capazes de resistir aos mecanismos de imunovigilância e à *anoikis*, processo de indução de apoptose após a separação entre uma célula e a matriz extracelular (figura 4) (Frisch & Francis, 1994). As células capazes de sobreviver a estes mecanismos vão permanecer na circulação e atingir novos locais. A paragem nestes novos locais está dependente do tamanho das células, que irão ficar retidas em vasos de pequeno calibre e/ou de uma interacção entre a célula e a vasculatura do hospedeiro, realizada através de um receptor (Bagge, Skolnik & Ericson, 1983). O passo seguinte da cascata metastática é denominado extravasão.

A extravasão consiste na acção das células tumorais sobre as células endoteliais do novo local, que sofrem retracção, expondo a membrana basal e a matriz extracelular, com

consequente digestão. Esta possibilita a colonização de novos territórios mas não implica necessariamente que a metastização seja bem sucedida. Com efeito, a sobrevivência no novo microambiente do hospedeiro não está garantida, depende da interação entre as células tumorais e o novo local, realizada através de moléculas de adesão (vários tipos de moléculas de adesão celular) e quimocinas (Withrow & Vail, 2007).

As células tumorais, ao conseguirem instalar-se, podem permanecer em estado latente ou proliferar e modular o novo ambiente. Claro está, que sem a reorganização dos vasos sanguíneos pré-existentes e estabelecimento da angiogénese, não poderá formar uma lesão metastática de dimensões apreciáveis. As células metastáticas isoladas não têm a estimulação parácrina dos factores de crescimento que o tumor primário tem, sendo por isso mais susceptíveis à morte celular. Se a colonização for precoce e eficaz na nova localização, as células conseguem proliferar e modulá-la, incluindo o recrutamento de células para constituição de uma nova vascularização que permite a manutenção e a promoção do crescimento das metástases (Withrow & Vail, 2007).

**Figura 4:** A cascata metastática. Passos sequenciais envolvidos na disseminação hematológica de um tumor. Na disseminação linfática, ocorrem eventos semelhantes (adaptado de Kumar, Abbas & Fausto, 2005).



## **2.10. Síndromes Paraneoplásicas**

O termo síndromes paraneoplásicas designa o conjunto de alterações estruturais ou funcionais, que são consequência dos efeitos metabólicos de uma neoplasia sobre tecidos distantes do local primário (Withrow & Vail, 2007). As síndromes paraneoplásicas têm uma apresentação muito variável, constituindo frequentemente o primeiro sinal de malignidade. Para além disso, podem constituir um indicador importante para o diagnóstico de alguns tipos de neoplasias. O tratamento da neoplasia primária é normalmente eficaz na resolução dos sinais e sintomas que lhe estão associados. A sua recidiva constitui um sinal precoce de recorrência da neoplasia (Withrow & Vail, 2007).

As síndromes paraneoplásicas são importantes no diagnóstico e na determinação do tipo de neoplasia, assim como na forma como influenciam o bem-estar animal. Por isso, por vezes é necessário escolher inicialmente uma abordagem terapêutica a eles direccionada e, apenas posteriormente, proceder à terapêutica direccionada à neoplasia primária.

Podemos encontrar vários tipos de síndromes paraneoplásicas, nomeadamente a nível endócrino, ósseo, hemático, cutâneo, renal, neurológico e gastrointestinal (tabela 2).

Embora as síndromes paraneoplásicas sejam frequentemente identificados em pacientes Humanos, quando nos focamos na Medicina Veterinária, a detecção é mais complicada (Withrow & Vail, 2007).



**Tabela 2:** Síndromes paraneoplásicas e tumores associados (adaptado de Withrow & Vail, 2007).

Manifestações gastrointestinais	Manifestações cutâneas
<b>Caquexia oncológica</b>	<b>Alopécia</b>
Vários tipos de neoplasia	Carcinoma pancreático (gato)
	Outros
<b>Ulceração gastrointestinal</b>	<b>Flushing</b>
Mastocitoma	Mastocitoma
Gastrinoma	Feocromocitoma
	Outros
<b>Manifestações endócrinas</b>	
<b>Hipercalcemia</b>	<b>Dermatofibrose nodular</b>
Linfoma	Cistadenoma/cistadenocarcinoma renal
Adenocarcinoma das glândulas apócrinas do saco anal	<b>Eritema necrolítico migratório</b>
Tumores da Paratiróide	Glucagonoma
Mieloma Múltiplo	
Tumores mamários	<b>Necrose cutânea dos membros posteriores</b>
Timoma	Linfoma (gatos)
Outros	
<b>Hipoglicemia</b>	<b>Pemphigus vulgaris</b>
Insulinoma	Linfoma (cão e gato)
Tumores hepáticos	
Tumores salivares	<b>Manifestações renais</b>
Leiomioma/leiomiossarcoma	<b>Glomerulonefrite/Síndrome nefrótica</b>
Tumores das células plasmáticas	Mieloma múltiplo
Linfoma	Policitemia vera
Outros	
<b>Anemia</b>	<b>Neuropatia periférica</b>
Tumores múltiplos	Insulinoma
	Outros
<b>Eritrocitose</b>	<b>Manifestações variadas</b>
Tumores renais (aumento da eritropoietina)	<b>Osteopatia hipertrófica</b>
Linfoma	Tumor pulmonar primário
Fibrossarcoma nasal	Rabdomiossarcoma da bexiga
Tumores hepáticos	Tumores do esôfago
	Tumores metastáticos
<b>Leucocitose neutrofilica</b>	Outros
Linfoma	
Tumores múltiplos	<b>Febre</b>
<b>Trombocitopenia/coagulopatias/CID</b>	Tumores múltiplos
Linfoma	
Mastocitoma	
Hemangiossarcoma	
Tumores da tireóide	
Tumores mamários	
Tumores nasais	
Carcinoma inflamatório	
Outros	

### **2.10.1. Manifestações endócrinas de neoplasia**

Segundo Uehlinger, Glaus, Hauser e Reusch, em 1998 (citado por Withrow & Vail, 2007), a hipercalcemia em cães, tem como causa mais frequente, a neoplasia. É detectada em cerca de dois terços de cães (Elliot, 1991) e aproximadamente um terço dos gatos com neoplasia (Savary, Price & Vaden, 2000), com o linfoma a constituir a etiologia neoplásica mais frequente. Outras neoplasias associadas a hipercalcemia em ambas as espécies, incluem o melanoma (Pressler *et al*, 2002) e leucemia linfocítica crónica (Kleiter, Hirt, Kirtz & Dav, 2001).

As causas de hipercalcemia podem ser muito variadas e incluem produção ectópica de paratormona (PTH) ou de péptido associado a PTH, por parte do tumor, extensas metástases ósseas líticas, hiperparatiroidismo primário, prostaglandinas associadas ao tumor, entre outras. O diagnóstico da etiologia da hipercalcemia relacionada com neoplasia é, por isso, muitas vezes, difícil. Esta situação é uma potencial emergência médica. Para controlo da hipercalcemia, deve ser realizado o tratamento da neoplasia subjacente. O tratamento sintomático, quando necessário, deve ser cuidadosamente seleccionado, pois pode dificultar o diagnóstico da causa primária (Withrow & Vail, 2007).

### **2.10.2. Manifestações ósseas de neoplasia**

A osteopatia hipertrófica é uma doença óssea de cães e gatos, caracterizada por proliferação periosteal de osso novo ao longo das diáfises dos ossos longos, em resposta a doença maligna ou não maligna (Withrow & Vail, 2007). A etiologia é ainda desconhecida mas pensa-se que possa resultar de estimulação neurológica aferente (Withrow & Vail, 2007). Enquanto síndrome paraneoplásica, a osteopatia hipertrófica é frequentemente devida a tumores pulmonares primários (Withrow & MacEwen, 2001). Encontra-se descrita em cães com metástases pulmonares, rabdomiossarcoma da bexiga, entre outros, assim como em gatos com carcinoma renal ou carcinoma adrenocortical (Barrand & Scudamore, 2001; Peters *et al*, 2008). O tratamento desta síndrome passa pela remoção da neoplasia subjacente, sempre que possível. A terapia adjuvante, através de prednisolona e anti-inflamatórios não esteróides, pode ser útil nos casos em que a neoplasia não pode ser removida (Withrow & Vail, 2007).

### 2.10.3. Manifestações hematológicas de neoplasia

As gamopatias monoclonais são frequentes tanto em animais como em Seres Humanos com neoplasia, recebendo o nome de doenças do componente M das imunoglobulinas (Forrester, Greco & Relford, 1992). Esta síndrome paraneoplásica ocorre devido a uma produção excessiva de proteínas de uma linha monoclonal de linfócitos ou de plasmócitos produtores de imunoglobulinas. Segundo Forrester e Relford, em 1992 (citado por Withrow & Vail, 2007) pode ser causado por linfoma, mieloma e por leucemias linfocíticas.

A anemia é uma das alterações mais frequentes relacionada com a presença de uma neoplasia. Estima-se que, pelo menos, 50% dos pacientes humanos com doença oncológica padeçam desta alteração hematológica (Ludwig *et al*, 2003), embora a incidência em Oncologia Veterinária não tenha ainda sido estabelecida. Em neoplasias com metástases, quer em animais quer em Seres Humanos, a anemia por doença crónica é a mais frequente. A anemia também pode ser consequência de quimioterapia, quando usada em dose e/ou frequências de administração altas, resolvendo-se geralmente após o término do tratamento (Withrow & Vail, 2007).

A eritrocitose é uma síndrome paraneoplásica pouco frequente. Ocorre devido a um aumento dos níveis de eritropoietina, quer directa quer indirectamente por hipóxia renal (Withrow & Vail, 2007). A eritrocitose surge associada a alguns tipos de neoplasias como o linfoma, tumores hepáticos e renais, segundo descrevem Peterson, em 1981, Nelson e Hager, em 1983 e Gorse, em 1988 (citados por Withrow & Vail, 2007). O tratamento passa pela remoção da neoplasia subjacente, responsável pela produção de eritropoietina. A flebotomia pode ser um tratamento adjuvante útil mas pouco prático, devido aos grandes volumes de fluidos e plasma que são necessários administrar posteriormente (Withrow & Vail, 2007).

A leucocitose neutrofílica, caracterizada por um aumento do número de neutrófilos circulantes, constitui uma alteração hematológica que pode surgir associada a um grande número de tumores em Seres Humanos (Ascensão, Oken, Ewing, Goldberg & Kaplan, 2006) e cães (Thompson, Christopher, Ellison, Homer & Buchanan, 1992). Infelizmente, a distinção entre a reacção leucemóide de natureza neoplásica e uma verdadeira leucemia é difícil sem um plano diagnóstico adequado. Excluindo a leucemia, a leucocitose neutrofílica associada a neoplasia, constitui uma síndrome com um significado clínico pouco relevante, que tende a resolver-se após a remoção do tumor (Withrow & Vail, 2007).

A trombocitopénia associada a neoplasia em pacientes Humanos e Veterinários é maioritariamente consequência da quimioterapia (Chisholm-Chait, 2000). Os tumores mais frequentemente associados são os tumores vasculares do baço e infiltrativos da medula como o linfoma e a leucemia (Hatgis & Feldman, 1991). No entanto, existem também outras

etiologias para além da quimioterapia. Por exemplo, a trombocitopénia imunomediada constitui outra etiologia possível (Chisholm-Chait, 2000). Sabe-se que, a incidência de trombocitopénia em cães com tumores, anterior à quimioterapia, pode chegar aos 36% (Chisholm-Chait, 2000). Em gatos com neoplasia, a trombocitopénia é também uma alteração hematológica frequente, podendo afectar até 20% dos doentes, com o linfoma a constituir a neoplasia mais implicada em felinos (Withrow & Vail, 2007). Como causas de trombocitopénia oncológica encontramos aumento de destruição plaquetária, sequestro, consumo ou diminuição da produção de plaquetas. A excisão do tumor é o tratamento para a trombocitopénia, embora possam ser usadas terapias adjuvantes como fluidoterapia, plasma ou heparina (Withrow & Vail, 2007).

A eosinofilia como síndrome paraneoplásica é raramente detectada em Medicina Veterinária e apresenta pouca relevância clínica. Apesar da reduzida incidência desta síndrome, foi descrita com alguma frequência em cães com neoplasias mamárias ou fibrossarcomas e gatos com uma variedade de tumores, como linfomas, sarcomas, mastocitomas e tumores da bexiga urinária (Sellon et al, 1992; Fossum, Wellman, Relford & Slatter, 1993; Barrs, Beatty, McCandlish & Kipar, 2002). O tratamento da eosinofilia passa pela remoção da neoplasia primária (Withrow & Vail, 2007).

As alterações na hemostase são comuns em pacientes oncológicos Humanos e Veterinários, com as coagulopatias como problema mais frequente. A trombocitopénia, trombocitose, coagulopatia intravascular disseminada (CID), disfunção plaquetária, alterações na agregação plaquetária ou hiperheparinémia constituem as disfunções coagulopáticas mais comuns (McNiel, Ogilvie, Fettman & Salman, 1997). Segundo Madewell, Feldman e O'Neil, em 1980 (citado por Withrow & Vail, 2007), 40% dos casos de CID em Seres Humanos, estão relacionados com a presença de neoplasia, o que pode ser um indicador da sua importância enquanto factor de prognóstico negativo nesta espécie e possível base de extrapolação para os animais.

#### **2.10.4. Manifestações cutâneas de neoplasia**

Embora em Seres Humanos exista uma grande variedade de manifestações cutâneas que podem ser associadas à presença de neoplasia, segundo Turek, em 2003 (citado por Withrow & Vail, 2007), em Oncologia Veterinária foram descritos poucos síndromes paraneoplásicas cutâneas. Destes destacam-se a alopecia, *flushing* cutâneo, dermatofibrose nodular, eritema

necrolítico migratório, dermatite necrolítica superficial ou síndrome hepatocutâneo (Barthez *et al*, 1997; Godfrey, 1998).

#### **2.10.5. Manifestações renais de neoplasia**

As complicações renais que podem surgir em pacientes oncológicos são de grande importância. A sua origem pode ser iatrogénica, como resultado de quimioterapia, antibioterapia, administração de contraste que provoque nefropatia, ou devido à neoplasia em si, como no caso do linfoma (Cohen & Post, 1999; Withrow & Vail, 2007). Segundo Rieselbach e Garnick, em 1982 (citado por Withrow & Vail, 2007), a prevalência de glomerulonefrite e perda de proteína na urina em Seres Humanos com neoplasia é de 6 a 10%. A prevalência da glomerulonefrite por imunocomplexos em Oncologia Veterinária ainda não foi determinada. Contudo, um estudo por Page e colaboradores, em 1990 (citado por Withrow & Vail, 2007), descreveu a sua presença num cão com eritrocitose.

#### **2.10.6. Manifestações neurológicas de neoplasia**

Em Seres Humanos, mais de 50% dos casos oncológicos apresentam algum grau de disfunção neuromuscular. No entanto, as alterações específicas do sistema neurológico em consequência de neoplasia são raras.

Em pacientes oncológicos veterinários, a prevalência destas manifestações é desconhecida. Em cães, o envolvimento do cérebro, nervo periférico e junção neuromuscular encontra-se descrito como síndrome paraneoplásica neurológica (Ridyard *et al*, 2008). Como manifestações neurológicas de neoplasia podem ser encontradas a *Miastenia gravis* e a neuropatia periférica (Ridyard *et al*, 2008). A resolução deste síndrome passa geralmente, pela remoção do tumor (Withrow & Vail, 2007).

#### **2.10.7. Manifestações gastrointestinais - Alterações gastrointestinais**

Algumas das alterações gastrointestinais que podem ser associadas à presença de neoplasia incluem a enteropatia por perda de proteína e ulceração gastrointestinal (Withrow & Vail, 2007).

A enteropatia por perda de proteína é uma síndrome em que há perda excessiva de proteínas plasmáticas para o tracto gastrointestinal, conduzindo a uma hipoproteínemia (Ettinger &

Feldman, 2009). A perda intestinal acontece através da vasculatura ou da mucosa, a qual pode ser devida a erosão da mucosa, ulceração ou obstrução linfática (Ettinger & Feldman, 2009). A hipoproteinémia encontrada nos pacientes oncológicos pode ser devida a alterações na síntese ou no aumento da perda de proteína para o trato gastrointestinal ou na urina. Quando é detectada, encontra-se já numa fase crónica (Withrow & Vail, 2007).

A sua incidência em termos de Oncologia Veterinária parece ser muito baixa e o seu tratamento passa por tratar a neoplasia primária (Withrow & Vail, 2007).

A ulceração gastrointestinal é causada normalmente por um tipo específico de neoplasia, o mastocitoma (Withrow & Vail, 2007). Acontece por estimulação dos receptores de histamina ( $H_2$ ) devido ao excesso de histamina, que conduz a um aumento na secreção de ácido gástrico (Withrow & Vail, 2007). Cerca de 75% dos cães com mastocitoma apresentam aumento das concentrações plasmáticas de histamina, sendo este um factor de prognóstico negativo (Fox *et al*, 2009). No entanto, apesar destes valores, a presença de sinais gastrointestinais é verificada apenas num pequeno número de cães (Fox *et al*, 2009).

Outra causa possível para a ulceração gastrointestinal enquanto síndrome paraneoplásica é o gastrinoma, o qual é raro mas que se encontra descrito tanto no cão como no gato (Withrow & Vail, 2007). O tratamento desta síndrome pode ser sintomático, com administração de protectores da mucosa gástrica, inibidores da bomba de protões, e acompanhado por rehidratação (Withrow & Vail, 2007).

#### **2.10.8. Caquexia e anorexia**

Hoje em dia, a perda de peso é um dos efeitos sistémicos mais comuns tanto em animais como em Seres Humanos com neoplasia (Tisdale, 1999; Bosaeus, Daneryd & Lundholm, 2002; Baez, Michel, Sorenmo & Shofer, 2007; Withrow & Vail, 2007;). Esta perda de peso está, muitas vezes, associada a anorexia. Esta pode ser o resultado da náusea associada ao tratamento quimioterápico ou consequência de alterações endócrinas e gastrointestinais produzidas pela neoplasia, que levam a perda do apetite (Baez *et al*, 2007).

A perda de peso em pacientes oncológicos ocorre através de um emagrecimento progressivo, com perda de massa muscular e de gordura, que não é possível atribuir a uma simples diminuição de ingestão e não é reversível através de um simples aumento de ingestão calórica (Warnold, Lundholm & Scherstén, 1978; Tisdale, 1999; Bosaeus *et al*, 2002; Mckinlay, 2004; Baez *et al*, 2007; Withrow & Vail, 2007). Todo este processo é denominado caquexia oncológica e parece estar relacionado com o balanço energético negativo, secundário a

diminuição da ingestão energética (por anorexia), a alterações na taxa metabólica basal e nos gastos energéticos, como reflexo de alterações que ocorrem nos metabolismos dos hidratos de carbono, proteínas e lípidos (Tabela 3) (Baez et al, 2007; Withrow & Vail, 2007).

É possível que substâncias sintetizadas e libertadas pelo tumor interfiram no metabolismo intermediário do hospedeiro (Withrow & Vail, 2007). Por outro lado, a caquexia pode ser o resultado de uma resposta exagerada, a nível neurológico, endócrino ou das citocinas, à presença de uma neoplasia, o que impede a utilização normal das calorias consumidas e conduz, eventualmente, à perda de peso observada (Tisdale, 1999). A hipótese mais provável é que a caquexia resulte de todas estas etiologias de forma combinada, modulada por influências variáveis individuais, sendo estas responsáveis pela variação de apresentações observadas a nível clínico (Withrow & Vail, 2007).

Sabe-se que, as alterações metabólicas associadas a esta síndrome ocorrem normalmente antes da perda de peso, tanto em pacientes oncológicos Veterinários como em Medicina Humana (Herber *et al*, 1986; Ogilvie *et al*, 1992).

Segundo Muscaritoli, em 2004 (citado por Withrow & Vail, 2007), em Seres Humanos, a caquexia associada a neoplasia surge em cerca de metade dos casos oncológicos, entre 40 e 90% nos casos hospitalizados e em 20% destes últimos é o factor responsável pela morte (Tisdale, 1999). Em Oncologia Veterinária, Ogilvie (2002) sugeriu ser a síndrome paraneoplásica com mais importância em cães e gatos.

**Tabela 3:** Factores essenciais na neoplasia (adaptado de Hand *et al*, 2000).

<b>Factores</b>	<b>Condições associadas</b>
Hidratos de carbono	Metabolismo alterado Hiperlactacidémia Hiperinsulinémia Intolerância à glucose
Proteínas	Metabolismo alterado Concentrações plasmáticas de aminoácidos diminuídas Caquexia Função imunitária alterada Cicatrização retardada
Lípidos	Metabolismo alterado Perfis sanguíneos alterados Caquexia (perda de depósitos de gordura) Redução de utilização da gordura pelas células cancerígenas

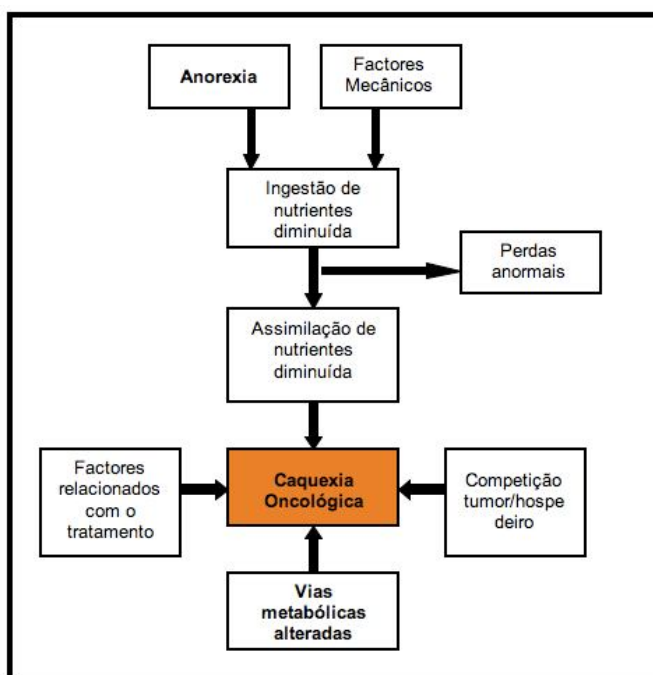
A caquexia associada a neoplasia envolve os vários metabolismos, não só o dos hidratos de carbono mas também o das proteínas e dos lípidos, afectando a taxa metabólica basal. Todas estas alterações em conjunto, conduzem a uma utilização energética ineficaz por parte do hospedeiro, com favorecimento do tumor (figura 5). As alterações no metabolismo dos hidratos de carbono são muito pronunciadas e estão, pelo menos em parte, relacionadas com as necessidades metabólicas do tumor. A neoplasia cresce e utiliza a glucose do hospedeiro como energia, produzindo grandes quantidades de lactato. Os hepatócitos do hospedeiro convertem este excesso de lactato em glucose, via Ciclo de Cori, resultado numa mudança no metabolismo da glucose de vias oxidativas de produção de energia para vias gluconeogénicas com gasto de energia. O resultado final é um ganho de energia por parte do tumor e uma perda de energia do hospedeiro. Esta alteração no metabolismo dos hidratos de carbono ocorre numa fase precoce da doença, correspondente à primeira fase da caquexia associada a neoplasia (Tabela 4) (Singh, Grigor & Thompson, 1980; Burt *et al*, 1981; Norton *et al*, 1984). Além destas alterações bioquímicas que ocorrem em resposta às alterações do metabolismo dos hidratos de carbono, ocorrem também outras que incluem aumento das concentrações sanguíneas de insulina sérica, padrões de secreção de glucagon alterados, aumento das taxas



de gluconeogénese e de *turnover* da glucose e resistência à insulina (de Blaauw *et al*, 1997; Case *et al*, 2000).

As necessidades energéticas durante o decurso do desenvolvimento de uma neoplasia, tanto em Seres Humanos como em animais, podem estar aumentadas, diminuídas ou inalteradas. Esta discrepância, deve-se ao facto de existirem várias fases de caquexia e por isso, as alterações bioquímicas precederem os sinais clínicos. Assim, animais que estejam num estadio pré-clínico de caquexia, deverão apresentar necessidades energéticas normais. Comparativamente, animais activos, com caquexia não tratada podem ter gastos energéticos mais elevados, enquanto que aqueles em estadios terminais podem estar hipometabólicos. Factores adicionais que podem afectar significativamente as necessidades energéticas incluem o tipo e tamanho do tumor e a fase de tratamento em que o paciente se encontra, a gravidade dos sinais clínicos e o nível de actividade (Case *et al*, 2000).

**Figura 5:** Mecanismos da Caquexia Oncológica (adaptado de Hand *et al*, 2000).



#### 2.10.8.1. Fases da Caquexia Oncológica

Considera-se que a caquexia oncológica está classificada em quatro fases (ver Tabela 4)(Case *et al*, 2000; Hand, Thatcher, Remillard & Roudebusch, 2000). Na primeira fase, o paciente não exhibe sinais clínicos mas estão presentes alterações bioquímicas, que incluem aumento dos valores sanguíneos de lactato e insulina e também alterações nos perfis lipídicos e de

aminoácidos. Os sinais clínicos surgem na segunda fase, em que o paciente começa a demonstrar anorexia, perda de peso e depressão e apresenta um maior risco de sofrer efeitos secundários à terapia anti-neoplásica. A terceira fase é caracterizada por uma marcada perda de gordura corporal e de depósitos de proteína, debilidade grave, astenia e evidências bioquímicas de um balanço negativo do azoto, tais como hipoalbuminémia. Os donos descrevem muitas vezes, nesta fase, vômito, diarreia, astenia, letargia e perda de peso. Se não for tratada nesta fase, a caquexia associada a neoplasia poderá conduzir à morte (Case *et al*, 2000; Hand *et al*, 2000). A quarta fase corresponde à remissão ou recuperação da neoplasia mas em que, apesar disso, as alterações metabólicas podem persistir (Hand *et al*, 2000).

**Tabela 4:** Fases das alterações clínicas e metabólicas em pacientes oncológicos (adaptado de Hand *et al*, 2000).

Fase	Alterações Clínicas	Alterações Metabólicas
1	Pré-clínico Fase Silenciosa Ausência de sinais clínicos evidentes	Hiperlactacidémia Hiperinsulinémia Perfil sanguíneo de aminoácidos alterado
2	Sinais clínicos iniciais Anorexia Letargia Perda de peso suave Mais susceptível aos efeitos secundários da quimioterapia, etc.	Alterações metabólicas semelhantes
3	Caquexia; Anorexia Letargia Mais susceptível aos efeitos secundários da quimioterapia, etc.	Alterações semelhantes mas mais pronunciadas
4	Recuperação Remissão	Alterações metabólicas podem persistir Alterações secundárias a cirurgia, quimioterapia ou radioterapia.

#### 2. 10.8.2. A caquexia oncológica em Animais de Companhia

Michel e colaboradores (2004), realizaram um estudo cujo objectivo foi relacionar a condição corporal com a perda de peso em cães com neoplasia. Os autores observaram que comparando um grupo com condição corporal normal ou alta, com outro com condição corporal baixa, o primeiro apresentava quase o triplo de indivíduos com perda muscular moderada ou elevada. Os dados obtidos neste estudo, mostram que apenas 4% de cães apresentavam sinais de caquexia e que 23% haviam perdido mais de 10% do peso corporal. Esta prevalência foi inferior à calculada em Seres Humanos, o que, segundo os autores poderia estar relacionado com os tipos e frequências das neoplasias diagnosticadas na população de cães em estudo,

bastante diferentes das encontradas em Seres Humanos. Segundo Persson e Bengt, em 2002 (citado por Michel *et al*, 2004), as neoplasias pancreática, do pulmão, do cólon, prostática e gástrica estão entre as mais frequentemente associadas a caquexia em Seres Humanos, contrariamente ao observado neste estudo, em que as mais frequentemente observadas foram os linfossarcomas, seguidos pelos mastocitomas e osteossarcomas. Outro factor que poderá ter influenciado a prevalência obtida, seria o factor bem-estar animal, pois, em Medicina Veterinária, nem todos os animais são submetidos a tratamento para a neoplasia apresentada e alguns são eutanasiados antes da manifestação dos sinais clínicos de caquexia, contrariamente ao que acontece em Medicina Humana, em que quase todos os casos são submetidos a tratamento, mais ou menos agressivo (Michel *et al*, 2004).

Baez e colaboradores (2007) descreveram evidências de perda de peso e/ou perda muscular numa população de felinos com neoplasia. Neste estudo, os autores conseguiram demonstrar em gatos com diferentes neoplasias, várias alterações que já haviam sido descritas em Seres Humanos com neoplasia, tais como a perda de peso e de condição corporal, a existência de uma associação significativa entre estes dois parâmetros, com o tempo médio de sobrevivência (TMS) e tendência para aparecimento de caquexia em gatos com determinadas neoplasias mais específicas (Baez *et al*, 2007). Assim, verificaram que 72% dos gatos com índice de condição corporal (ICC) normal ou excessivo apresentavam uma perda muscular significativa, 44% apresentavam um ICC baixo e 93% apresentavam sinais de perda muscular. Estes resultados contrastaram com o estudo de Michel e colaboradores (2004), em que a incidência dos vários parâmetros em gatos, foi sempre mais baixa.

O estudo de Baez e colaboradores (2007) permitiu demonstrar que a caquexia oncológica é a síndrome mais importante e frequente em gatos que em cães. Tal como em Seres Humanos, existe uma percentagem elevada de animais a demonstrar perda de peso e de massa muscular. No entanto, mais estudos devem ser realizados para comprovar estes resultados.

## **2.11. Alterações metabólicas encontradas na presença de neoplasia**

### **2.11.1. Metabolismo proteico**

O tecido muscular constitui o local de maior concentração proteica no corpo, constituindo cerca de 50% do *turnover* proteico corporal total em condições normais (de Blaauw *et al*, 1997). Em Seres Humanos e em animais, as neoplasias conduzem a uma perda de massa muscular, diminuição da síntese e aumento da degradação das proteínas do músculo esquelético, aumento da síntese de proteínas hepáticas e a alteração do balanço do azoto

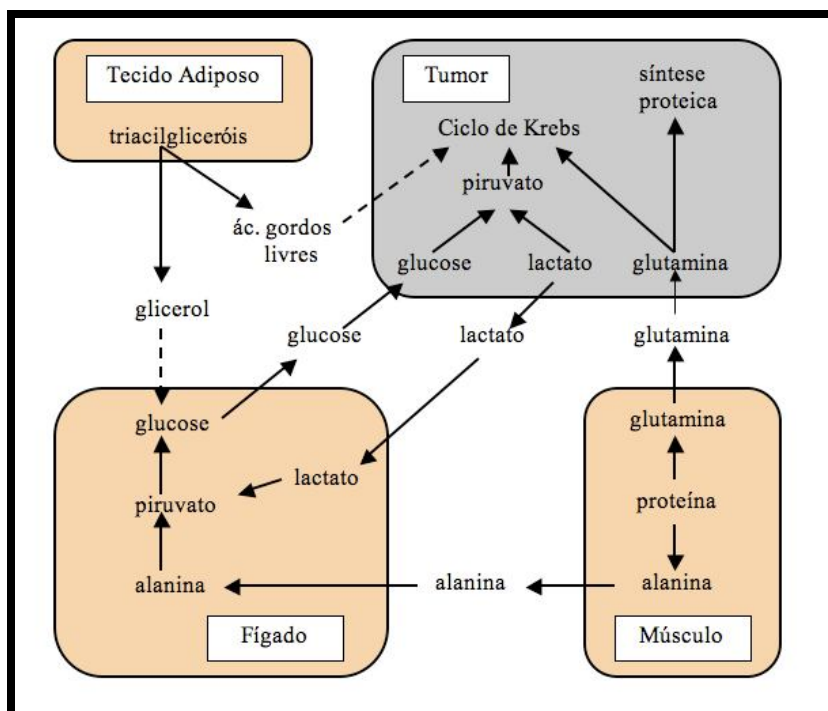
(Dempsey & Mullen, 1985; Heber *et al*, 1986; Tayek, Blackburn & Bistran, 1988; Tisdale, 1999).

Os tumores usam frequentemente aminoácidos como fonte de energia. O seu uso torna-se evidente do ponto de vista clínico, quando a degradação e perda de proteína excedem a sua síntese, conduzindo a alterações de funções corporais tais como diminuição da resposta imunitária, função gastrointestinal, cicatrização cirúrgica, perda muscular e hipoalbuminémia (figura 6) (Case *et al*, 2000).

Em ratos com neoplasia, a perda de proteína muscular parece estar limitada a proteínas miofibrilares da musculatura esquelética, ocorrendo por diminuição das taxas de síntese proteica, aumento das taxas de degradação proteica ou uma combinação de ambas (de Blaauw *et al*, 1997).

Um estudo realizado em cães com neoplasia, determinou que estes apresentavam diminuições significativas das concentrações plasmáticas de diversos aminoácidos (glutamina, glicina, valina, cistina e arginina) enquanto que outros (isoleucina e fenilalanina) se encontravam significativamente aumentados, quando comparados com cães sem neoplasia (Ogilvie & Vail, 1994 citado por Case *et al*, 2000). Os resultados foram os mesmos para os diferentes tipos de neoplasias e as alterações não normalizaram após remoção cirúrgica da neoplasia primária (Ogilvie & Vail, 1994 citado por Case *et al*, 2000). Os resultados obtidos neste estudo indicam a presença de alterações a longo prazo no metabolismo proteico, que talvez ocorram também em gatos (Case *et al*, 2000).

**Figura 6:** Interações metabólicas entre o tumor e o hospedeiro. As três principais vias associadas a caquexia oncológica são: (1) reciclagem do lactato, que está associado a um aumento na gluconeogénese hepática e decorrente actividade do Ciclo de Cori; (2) mobilização lipídica, devido a uma inibição da lactato desidrogenase (LDH) e aumento da lipólise e provocando uma hipertrigliceridémia; e (3) perda muscular como resultado de aumento da degradação proteica que conduz à libertação de aminoácidos que vão ser utilizados pelo tumor para sustentar o seu crescimento e pelo fígado para a síntese de proteínas de fase aguda (adaptado de Argilés *et al*, 1997).



### 2.11.2. Metabolismo lipídico

A perda de gordura em pacientes oncológicos Veterinários representa a maior proporção de perda de peso total corporal, chegando mesmo a atingir os 80% das reservas de gordura (Warnold, Lundholm & Schersten, 1978; Fredrix *et al*, 1990; Tisdale, 1999). Esta perda de gordura ocorre não só devido a uma redução na ingestão mas também por uma diminuição da lipogénese e aumento da lipólise (Case *et al*, 2000).

A diminuição dos depósitos de gordura em Seres Humanos, durante o processo neoplásico, está associada ao desenvolvimento de hipertrigliceridémia e hiperlipidémia (Douglas & Shaw, 1990). Esta hipertrigliceridémia poderá ser importante do ponto de vista clínico, uma vez que concentrações lipídicas elevadas são conhecidas por conduzirem a imunossupressão e a redução do tempo de sobrevivência (de Blaauw *et al*, 1997; Case *et al*, 2000).

Num estudo realizado por Ogilvie e colaboradores, em 1988 (citado por Case et al, 2000), em cães com linfoma, que não receberam tratamento, as concentrações séricas de triglicéridos, ácidos gordos livres e lipoproteínas de muito baixa densidade encontravam-se significativamente aumentadas quando comparadas com controlos saudáveis.

### **2.11.3. Metabolismo dos hidratos de carbono**

O metabolismo dos hidratos de carbono tem como objectivo a produção de energia, sob a forma de ATP, através da via aeróbia ou anaeróbia (Allen & Holm, 2008). O seu primeiro passo é a glicólise, responsável pela formação de piruvato. Esta poderá seguir simultaneamente para os metabolismos proteico e lípidico (figura 6) (Allen & Holm, 2008).

A glicólise é um via metabólica muito menos eficiente que o metabolismo aeróbio, produzindo uma menor quantidade de energia, compensado este facto por ocorrer a uma velocidade superior. O cérebro, coração e músculo esquelético são os órgãos que apresentam as taxas de glicólise mais elevadas (Allen & Holm, 2008). Durante este processo, produzem-se iões hidrogénio que, normalmente, são consumidos pelo metabolismo aeróbio (Ferraz *et al*, 2008). Caso este não se processe, os iões hidrogénio acumulam-se e poderão conduzir a acidose.

A glicólise é influenciada pela disponibilidade de oxigénio, a actividade da enzima LDH e o rácio ATP/ADP (Ferraz *et al*, 2008). Quando as concentrações dos produtos finais da glicólise, piruvato, NADH e iões de hidrogénio aumentam, ocorre uma desaceleração desta via, com formação de lactato, consumo de piruvato e iões hidrogénio e regeneração do  $\text{NAD}^+$ . Esta reacção permite que a glicólise e a produção citosólica de energia continuem (Allen & Holm, 2008).

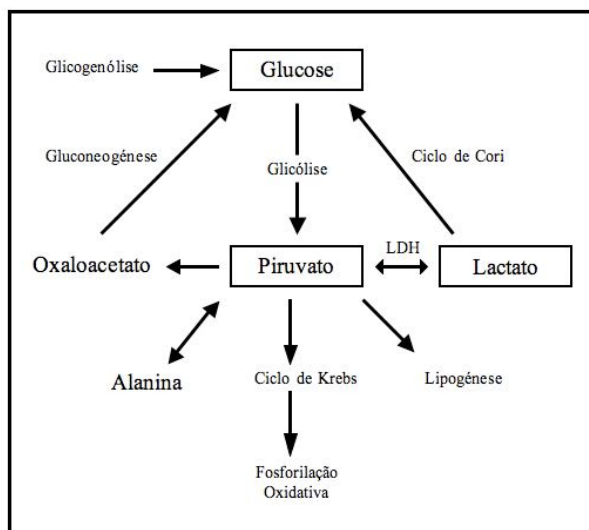
O piruvato, após a sua formação, segue por uma das vias metabólicas (Figura 7):

- 1) lipogénese
- 2) oxidação no ciclo de Krebs
- 3) formação da alanina
- 4) gluconeogénese
- 5) conversão a lactato (Nel, Lobetti, Keller & Thompson, 2005).

Sob condições aeróbias, o piruvato difunde-se para dentro da mitocôndria da célula e, por via do ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa, produz ATP e oxida NADH a  $\text{NAD}^+$ . Em células que não possuem mitocôndrias, tal como o caso dos eritrócitos, o piruvato é convertido pela

enzima LDH em lactato. A conversão do piruvato em lactato permite a oxidação de NADH a  $\text{NAD}^+$  e a continuação da glicólise (Allen & Holm, 2008).

**Figura 7:** Diagrama representativo do metabolismo dos hidratos de carbono e das relações entre a glucose, o lactato e o piruvato (adaptado de Jacobson & Lobetti, 2005).



Legenda: LDH = Lactato desidrogenase.

O lactato produzido pelos eritrócitos, difunde-se das células para o sangue e através deste, é transportado para outros tecidos que são capazes de usá-lo para produzir energia. Nos rins, coração e fígado, o lactato é convertido de volta a piruvato e depois transportado para as mitocôndrias para produzir ATP (figura 7). No fígado e rins, o lactato pode ser convertido a glucose via gluconeogénese. A glucose produzida pode ser armazenada sob a forma de glicogénio ou libertada para a corrente sanguínea para que seja utilizada por outras células e tecidos. A produção do lactato por um tecido e conversão a glucose por outro é conhecido como Ciclo de Cori (Allen & Holm, 2008).

Em condições de anaerobiose, provocadas por hipóxia, os tecidos são obrigados a usar a glicólise como única fonte de produção de energia (Allen & Holm, 2008) e o piruvato derivado da conversão anaeróbia da glucose, não consegue entrar no ciclo de Krebs via acetil-coenzima A (Valenza *et al*, 2005). A conversão do piruvato em lactato, independentemente da estequiometria desfavorável, permite a produção de energia sem o oxigénio, sendo estimulada quando ocorre diminuição do rácio ATP/ADP (Valenza *et al*, 2005; Ferraz *et al*, 2008). Este é um mecanismo adaptativo importante para garantir a sobrevivência à hipóxia (Weil & Afifi, 1970; Bakker, Coffernils, Leon, Gris & Vincent, 1991; Friedman, Berlot, Kahn & Vincent,

1995; Meregalli *et al*, 2004; Valenza *et al*, 2005), através do redirecionamento da utilização do lactato na gluconeogénese no fígado (Leverve & Mustafa, 2002), da diminuição da oxidação da glucose por via da resistência à insulina (Valenza *et al*, 2005) e do redirecionamento da compartimentalização do metabolismo da glucose/lactato entre diferentes tipos de células dentro do mesmo órgão (Pellerin & Magistretti, 2003).

Quando o piruvato é convertido em lactato nas células em hipóxia, o rácio lactato-piruvato aumenta. Os níveis intracelulares de lactato aumentam e o lactato atravessa a membrana celular e move-se para o sangue, quer através de um co-transportador bidireccional quer através de um sistema de troca de aniões e difusão livre (Allen & Holm, 2008).

Quando o lactato produzido excede a capacidade hepática de metabolização, ocorre hiperlactacidémia, que é acompanhada pela acidémia decorrente dos iões hidrogénio em excesso, que não são neutralizados (Kirk & Bonagura, 2000). Se ocorrer restabelecimento das condições aeróbias, o lactato e os iões hidrogénio são consumidos, sendo metabolizados em glucose ou oxidados e transformados em água e dióxido de carbono (Luft, 2001).

A gluconeogénese aumentada foi observada *in vitro* e *in vivo* tanto em Seres Humanos como em animais com neoplasia (Holroyde, Gabuzda, Putnam, Paul & Reichard, 1975; Singh, Grigor & Thompson, 1980). Esta caracteriza, juntamente com um aumento no *turnover* da glucose, aumentos da resistência à insulina pela glucose, o metabolismo dos hidratos de carbono no cancro (De Blaauw *et al*, 1997). A extensão do *turnover* do lactato *in vivo* em Seres Humanos é de magnitude semelhante ao da glucose, alanina ou glutamina, i.e., o lactato possui uma das mais altas taxas de reciclagem do metabolismo intermediário (Leverve & Mustafa, 2002).

#### **2.11.4. Metabolismo da glucose e alterações nos níveis de insulina**

Diferentes estudos apresentaram diferentes níveis de insulina e glucose e propuseram possíveis mecanismos relacionados com o desenvolvimento tumoral para justificar as alterações observadas. Embora a maioria dos estudos enunciados indique uma diminuição dos níveis de glicémia e refiram mesmo a possibilidade de diminuição dos níveis de insulina, outros estudos (ver adiante), apresentam dados diferentes.

Em 1956, Marks e Bishop observaram uma diminuição da tolerância à glucose em Seres Humanos com diversos tipos de neoplasia. No seu estudo, realizaram um teste intravenoso de tolerância à glucose e verificaram que, em pacientes oncológicos, a taxa de desaparecimento



desta, era bastante mais lenta do que em Seres Humanos saudáveis. Os autores propuseram como possível explicação, um aumento na taxa de libertação de glucose pelo fígado, contribuindo para a manutenção dos valores elevados de glucose no sangue. No entanto, não eliminaram por completo a possibilidade de uma diminuição da utilização periférica da glucose. As alterações do metabolismo da glucose encontradas neste estudo, parecem reflectir, segundo os autores, alterações no metabolismo do hospedeiro associadas à presença de neoplasia. Estas alterações poderão representar defeitos na actividade enzimática do metabolismo dos hidratos de carbono (Marks & Bishop, 1956).

Shapot, em 1970 (citado por Shapot & Blinov, 1974), referiu que devido ao enorme gradiente que se estabelece entre a concentração sanguínea de glucose nos vasos peri e intra-tumorais, a neoplasia teria prioridade sobre os tecidos normais em termos de consumo desse nutriente. Numa tentativa de manter os níveis de glucose sanguínea, ocorreria uma diminuição de síntese e aumento de mobilização de glicogénio do fígado e músculo esquelético do hospedeiro (Shapot & Blinov, 1974).

Em 1974, Shapot e Blinov concluíram que um tumor em crescimento capta a glucose e funciona como um factor hipoglicémico poderoso, dificultando a acção do hospedeiro para manter um nível glicémico normal. Acreditaram que esta propriedade dos tumores malignos seria determinada por um desnível entre a elevada taxa de consumo de glucose por parte das células cancerígenas, e o aporte de glucose, claramente insuficiente para satisfazer a primeira. Este desnível levaria a uma diminuição de concentração de glucose no tecido tumoral e no meio circundante, levando a que as células cancerígenas permanecessem num estado de elevada apetência para a glucose (Shapot & Blinov, 1974).

Este mecanismo compensatório parece ser altamente eficaz, uma vez que, valores normais de glicémia foram observados na maioria dos animais e Seres Humanos com neoplasia (Shapot & Blinov, 1974). Além da glicogenólise, existe também evidência, que os tumores em crescimento forçam o hospedeiro a depender da gluconeogénese, para manter os seus níveis sanguíneos de glucose, através de diminuição dos níveis de glicogénio hepático e aumento do Ciclo de Cori (Shapot & Blinov, 1974). Neste estudo, o lactato apresentou-se como o precursor gluconeogénico mais importante, proveniente da actividade glicolítica e a partir do qual, a gluconeogénese ocorria a uma taxa relativamente elevada, o que reflectia o aumento da taxa de reciclagem da glucose. Estes factores contribuíram provavelmente para o aumento marcado que se observou nas concentrações sanguíneas de lactato durante o estudo (Shapot & Blinov, 1974).

Em 1981, Burt e colaboradores demonstraram alterações no metabolismo da glucose em ratos com tumores mas sem evidência de caquexia, que haviam sido sujeitos a um jejum de 36

horas. A observação destas alterações foi importante para diferenciar a existência de alterações como resultado da presença de tumor e não como consequência de caquexia e/ou diminuição de ingestão.

Neste estudo, os animais com tumor, quando comparados com um grupo controle de animais sem tumor, apresentaram hipoglicémia e hiperlactacidémia, ao mesmo tempo que demonstraram um aumento de produção de glucose. A influência de factores hormonais foi posta de parte como causa destas alterações pois as principais hormonas reguladoras da glucose, a insulina e o glucagon, encontraram-se em níveis apropriados em relação às concentrações de glucose (Burt, Lowry, Gorschboth & Brennan, 1981).

Este aumento de produção de glucose em animais em jejum, pode ser explicado por três principais mecanismos: (1) glicogenólise, (2) gluconeogénese a partir de aminoácidos e glicerol e (3) reciclagem de piruvato e lactato (originários da glucose por glicólise) de volta a glucose (o chamado Ciclo de Cori). No entanto, a glicogenólise não foi considerada como hipótese porque em jejum, o glicogénio hepático é degradado em quantidades desprezáveis. Os autores consideraram que a reciclagem da glucose foi o principal responsável pelos valores de glucose observados (Burt *et al*, 1981).

A hipótese avançada pelos autores, defende que o tumor consumiria grandes quantidades de glucose produzida pelo hospedeiro e produziria anaerobicamente lactato. Este lactato seria libertado e transportado para o fígado do hospedeiro, de forma a ser convertido de volta a glucose. Assim, o hospedeiro gastaria energia a re-sintetizar glucose a partir do lactato mas também perderia a energia que a glucose representa, por esta ser sequestrada pelo tumor. Isto justificaria também o aumento dos gastos energéticos observados nos animais com tumores (Burt *et al*, 1981).

As alterações no sistema hormonal são o mecanismo maioritariamente responsável pelas alterações metabólicas e do estado nutricional do organismo durante a progressão tumoral (Lundholm *et al*, 2007). A maioria das hormonas estão envolvidas, mas a resistência à insulina aparece precocemente como uma alteração que pode contribuir para a perda de peso (Lundholm, Holm & Schersten, 1978). A redução da sensibilidade periférica à insulina foi observada em pacientes oncológicos e em modelos de neoplasia em roedores, embora em alguns casos também se tenha verificado um aumento de sensibilidade (Lundholm *et al*, 1978). Outras alterações foram também documentadas em pacientes oncológicos, nomeadamente, no sistema noradrenérgico, no eixo hormona do crescimento/*insuline-like growth factor I* (IGF-I) (Lundholm, Daneryd, Bosaeus, Korner & Lindholm, 2004), nos níveis de hormona tiroideia, glucocorticóides, leptina, grelina e outros factores neuroendócrinos. A maioria das alterações hormonais está associada a outras alterações das vias metabólicas

nomeadamente a aumento dos eicosanóides, factores de crescimento e citocinas (Lundholm *et al*, 2007).

Estudos prévios em pacientes oncológicos caquéticos que demonstraram existir intolerância à glucose em combinação com outras alterações do metabolismo dos hidratos de carbono (Bennegard, Eden, Ekman, Schersten & Lundholm, 1982; Eden, Edstrom, Bennegard, Schersten & Lundholm, 1984; Holroyde, Skutches, Boden & Reichard, 1984), com a primeira a surgir numa fase precoce do cancro, mesmo antes da perda de peso e anorexia (Lundholm *et al*, 2007). A produção insuficiente e/ou aumento da remoção de insulina pode também contribuir para a intolerância à glucose nas neoplasias (Lundholm *et al*, 2007). A suplementação de insulina poderá contrariar esta intolerância à glucose, segundo estudos em animais (Moley, Morrison & Norton, 1985; Brauer *et al*, 1994).

### **3. Lactato**

#### **3.1. Definição e metabolismo do lactato**

O lactato é na realidade, um “cul de sac” metabólico, uma vez que é metabolizado por uma única enzima, a lactato desidrogenase. A cascata energética em que o lactato participa, ocorre entre órgãos responsáveis pela libertação do lactato e o fígado. Todos os órgãos são capazes de libertar lactato porque quase todas as células contêm as diferentes enzimas que permitem a conversão de glucose em lactato, à excepção dos ilhéus pancreáticos, que são deficientes em lactato desidrogenase (Sekine *et al*, 1994).

Em termos quantitativos, os eritrócitos e o músculo são os principais tecidos produtores de lactato em condições fisiológicas, embora outros órgãos se tornem relevantes em estados patológicos, como é o caso dos pulmões (Iscra, Gullo & Biolo, 2002). O fígado é frequentemente considerado como o principal órgão para a eliminação de lactato devido ao seu papel importante na gluconeogénese. No entanto, também o rim se apresenta como órgão altamente gluconeogénico (Cano, 2002). Anteriormente, o rim era tido como complementar no desempenho da gluconeogénese, pensando-se que desempenhava apenas um papel secundário (Cano, 2002). O seu papel foi, no entanto, reavaliado quando Gerich e colaboradores (2001) realizaram uma revisão de estudos prévios em Seres Humanos, comprovando a importância dos rins na metabolização do lactato, assim como de outros precursores, como alanina e glutamina, na gluconeogénese (Gerich, Meyer, Woerle & Stumvoll, 2001).

### 3.2. Hiperlactacidémia e Acidose láctica

Em Seres Humanos, o intervalo definido como normal para valores de lactacidémia varia entre 1-2mmol/L, podendo ir até 5 mmol/L (Pittard, 1999). Acima deste valor e na ausência de acidose metabólica, considera-se que existe uma lactacidémia (Pittard, 1999). Esta é tida como marcador de mau prognóstico, estando associada de forma significativa a taxas de mortalidade elevadas em pacientes com doença aguda (Bakker *et al*, 1991).

O limite normal do lactato corresponde ao ponto a partir do qual, se perde o equilíbrio entre a produção, a utilização e a eliminação do lactato. De uma forma geral, este acontece quando há uma excessiva produção, utilização ou eliminação insuficiente ou uma combinação de ambos (Pittard, 1999; Ferraz *et al*, 2008). Uma vez atingido este limiar, o nível de lactato sanguíneo aumenta exponencialmente (Pittard, 1999; Ferraz *et al*, 2008).

Além destes factores, a hiperlactacidémia pode ocorrer apesar de existir uma perfusão tissular normal e os sistemas de tampão estarem a funcionar apropriadamente. Tal acontece quando existem condições que aumentem o fluxo glicolítico da glucose em lactato (Pittard, 1999).

Se a produção endógena de catecolaminas estiver aumentada como acontece durante episódios de stress, estas vão levar a um aumento nas concentrações de glucose sanguínea, por estimularem a glicólise. Ocorre então um aumento de produção de lactato, devido ao aumento exponencial da piruvato desidrogenase. Apesar de existir hiperlactacidémia, este processo não está associado ao desenvolvimento de acidose, uma vez que se desenrola em condições aeróbias. Denomina-se então, hiperlactacidémia de stress (Handy, 2007). A presença ou a ausência de acidose é por isso, um mecanismo importante de separação das etiologias aeróbica e anaeróbica da hiperlactacidémia. Outro marcador que pode auxiliar na diferenciação destas etiologias é o rácio lactato:piruvato. Em condições aeróbias, com estimulação da glicólise, a síntese de piruvato aumenta na mesma proporção que a de lactato, resultando num rácio normal de lactato:piruvato de 10:1. Contudo, na presença de anaerobiose, o lactato aumenta a uma taxa que excede aquela do piruvato, com um aumento no seu rácio (Wasserman *et al*, 1985).

A *acidose láctica* é assim definida como a elevação da concentração plasmática do lactato, acima dos 5 mmol/L, que vai conduzir a uma diminuição do pH arterial a valores inferiores a 7,35 (Allen & Holm, 2008; Pittard, 1999). No entanto, segundo Kriesberg, em 1980 (citado por Pittard, 1999) a relação entre as concentrações sanguíneas de lactato e o pH não é linear. A acidose láctica pode ser secundária a hipoperfusão tissular, fármacos ou anomalias congénitas do metabolismo dos hidratos de carbono (Pittard, 1999). Quando há evidência de uma má perfusão tissular, o grau de acidose láctica correlaciona-se com a mortalidade

(Pittard, 1999).

A acidose láctica pode ser dividida em dois tipos, o *Tipo A* e o *Tipo B*. Esta classificação foi inicialmente sugerida por Cohen, em 1976 (citado por Valenza *et al*, 2005) e corresponde, respectivamente, a acidose láctica na presença ou na ausência de causas evidentes de hipóxia tissular que expliquem a causa subjacente do aumento de lactato. No entanto, dada a complexidade da doença crónica, a distinção entre os dois tipos pode ser difícil e mesmo artificial. A acidose de Tipo A é a mais frequente e consiste num aumento de produção de lactato devido a hipóxia tecidular, na presença de função mitocondrial normal. A acidose de tipo B ocorre em condições de aporte adequado de oxigénio mas com alteração da função mitocondrial ou do metabolismo dos hidratos de carbono (Valenza *et al*, 2005).

A acidose de Tipo B pode ser subdividida em:

- B1: devido a um processo de doença subjacente, em que a acidose láctica não se deve a hipoperfusão mas possivelmente a uma diminuição da eliminação de lactato. A acidose do tipo B, em Medicina Veterinária, surge associada a diabetes mellitus, doença hepática, neoplasia ou sépsis (Eschun, Light & Mink, 2000; Luft, 2001);
- B2: farmacológica ou tóxica, devida a fármacos ou toxinas que interfiram com a fosforilação oxidativa; e
- B3: devido a disfunção metabólica, por defeitos mitocondriais.

A combinação entre os tipos A e B também pode ocorrer (Luft, 2001). A diferenciação entre as várias etiologias é importante porque representam processos metabólicos com diferentes prognósticos e terapêuticas (Handy, 2007).

Em Seres Humanos, a hipóxia tecidular resultante da hipoperfusão é a causa mais comum de acidose láctica. Uma acidose láctica deste tipo pode acontecer nos casos de choque, anemia grave, dificuldade respiratória e estados hipermetabólicos (Luft, 2001).

A insuficiência renal aguda pode contribuir para a acidose láctica já que os rins são também responsáveis pela metabolização do lactato (Gerich *et al*, 2001). Estudos em animais sugerem que o lactato é quase inteiramente filtrado nos glomérulos e é sujeito a quase 100% de reabsorção no túbulo contornado proximal (Hohmann, Frohnert, Kinne & Baumann, 1974). Ainda assim, em condições de hiperlactacidémia é provável que a eliminação de lactato na urina seja realizada em níveis desprezáveis (Morris & Low, 2008).

### **3.3. Lactato como factor de prognóstico**

O lactato tem sido usado como marcador em pacientes com prognóstico grave desde Broder e Weil, em 1964 (citado por Valenza *et al*, 2005). Em 1970, Weil e Afifi demonstraram a

relação existente entre a concentração de lactato e o prognóstico da doença. Estes resultados foram posteriormente confirmados por diversos autores (Vitek & Cowley, 1971; Bakker *et al*, 1991; Levraut *et al*, 2003).

Actualmente, sabe-se que pacientes com acidose láctica além de apresentarem uma taxa de mortalidade mais elevada, apresentam também um risco superior de sofrerem falência multiorgânica (Bakker *et al*, 1996).

Uma maior taxa de eliminação de lactato durante o período de tratamento parece estar relacionado com uma maior taxa de sobrevivência (Morris & Low, 2008). Como tal, de momento, a monitorização seriada dos valores de lactato é um procedimento de rotina, na avaliação da resposta à terapia. Além disso, serve como indicação para a necessidade de novas intervenções terapêuticas, caso as terapêuticas iniciais não sejam capazes de aumentar a taxa de eliminação do lactato (Morris & Low, 2008).

Apesar destas vantagens, existem alguns cuidados a ter em conta, antes de considerarmos a medição de lactato como um marcador clínico de hipoperfusão. A colheita de amostra, a estabilidade de armazenamento da mesma, o efeito metabólico das células sanguíneas ou mesmo problemas técnicos podem afectar a interpretação das concentrações de lactato (Valenza *et al*, 2005).

Segundo o estudo de Mizock, em 1995 (citado por Nel *et al*, 2005), os Seres Humanos que apresentem infecções ou lesões graves podem apresentar hiperlactacidémia persistente. Estudos que investigaram as concentrações sanguíneas de lactato em pacientes em choque, mostraram uma correlação entre este parâmetro e a percentagem de sobrevivência. Com efeito, os pacientes humanos em choque séptico cuja concentração de lactato se manteve elevada independentemente do tratamento, apresentaram uma taxa de mortalidade mais elevada quando comparada com pacientes cujas concentrações diminuíram ao longo do tratamento (Bakker *et al*, 1996). Num estudo de Vincent e colaboradores, em 1983 (citado por Nel *et al*, 2005), em que foi abordado o choque circulatório em Seres Humanos, demonstrou-se que as concentrações de lactato começavam a diminuir na primeira hora após o início do tratamento adequado nos sobreviventes. Pelo contrário, os pacientes que não responderam ao tratamento, mantiveram as concentrações sanguíneas de lactato.

A rapidez com que o lactato é eliminado do sangue relaciona-se positivamente com o prognóstico, com a maior incidência de mortalidade ou falência orgânica. Com efeito, a eliminação do lactato apresenta um valor prognóstico superior ao da medição única dos níveis de lactato (Meregalli *et al*, 2004).

Apesar das vantagens acima demonstradas, infelizmente mesmo quando os valores de lactato se encontram aumentados, tal poderá não significar que se está na presença de hipoperfusão

esplâncnica, uma vez que podem existir outras causas para o seu aumento. Por exemplo, os pulmões podem estar a produzir grandes quantidades de lactato independentemente de um bom aporte de oxigénio (Kellum *et al*, 1997) e o fígado pode ter a sua capacidade de eliminação diminuída (Pittard, 1999). Além disso, o inverso também é verdadeiro, uma vez que os resultados de vários estudos sugerem que as concentrações sanguíneas normais de lactato nos doentes em estado crítico, não garantem uma perfusão esplâncnica adequada (Kellum *et al*, 1997).

Tal como em Medicina Humana, a medição de lactato revelou ter grande interesse prognóstico em várias espécies veterinárias, como é o caso de cães (Ogilvie *et al*, 1992; Ogilvie *et al*, 1997; de Papp, Drobatz & Hughes, 1999; Jacobson & Lobetti, 2005; McMichael *et al*, 2005; Nel *et al*, 2005; Stevenson *et al*, 2007), cavalos (Ihler, Venger & Skjerve, 2004; Henderson *et al*, 2008) e gatos (Chan *et al*, 2006).

### **3.4. Estudos sobre lactato em animais – Várias espécies**

Já em 1925, Cori e Cori demonstraram uma diminuição nos níveis de glucose e um aumento dos níveis de lactato em galinhas com sarcoma numa das asas comparativamente à asa contralateral normal. Esta foi a primeira sugestão de que existe elevada actividade glicolítica em tumores sólidos. Esta observação sugeriu, também que as células tumorais podem influenciar o metabolismo dos hidratos de carbono em pacientes oncológicos (Cori & Cori, 1925; de Blaauw *et al*, 1997).

A maioria dos estudos realizados em Medicina Veterinária, inicialmente incidiram sobre a espécie equina. Em 1976, Moore, Owen & Lumsden (citado por Nel *et al*, 2004) realizaram um estudo que avaliava o lactato sanguíneo em 36 cavalos com cólica. Neste estudo demonstrou-se que, concentrações elevadas de lactato sanguíneo apontavam para um mau prognóstico de sobrevivência. Com base nestes resultados, os autores sugeriram que o lactato sanguíneo fosse utilizado juntamente com os resultados do exame físico como valor prognóstico na cólica equina (Nel *et al*, 2004).

Em 1995, foi realizado um outro estudo por Furr, Lessard & White (citado em Nel *et al*, 2004), que analisou o exame físico e os valores laboratoriais em cavalos com cólica, de forma a determinar as diferenças entre sobreviventes e não sobreviventes. O lactato sanguíneo foi uma das quatro variáveis escolhidas, que contribuiu positivamente para a determinação de uma escala de gravidade da cólica, a qual tinha como objectivo o estabelecimento do prognóstico e o seu uso como um índice de gravidade para cavalos com cólica (Nel *et al*,

2004).

Em Animais de Companhia, os estudos realizados com lactato limitaram-se, quase exclusivamente, aos cães. Na maioria destes estudos utilizaram-se amostras obtidas numa veia periférica, com o objectivo de identificar a hipoperfusão subjacente e a avaliar a resposta ao tratamento (Nel *et al*, 2004; Allen & Holm, 2008).

Em 1992, Ogilvie *et al*, usaram um grupo de cães com linfoma como grupo teste, num estudo que pretendia avaliar os efeitos da quimioterapia e da remissão tumoral sobre o metabolismo dos hidratos de carbono. Neste estudo, os animais seleccionados não haviam sido submetidos a tratamento para a neoplasia em questão para que houvessem duas fases em análise, uma fase pré-tratamento e uma fase pós-tratamento com doxorrubicina. O teste consistiu em realizar uma recolha de sangue após um jejum de 12 horas, seguida da administração endovenosa de dextrose, após a qual, cinco outras amostras de sangue foram recolhidas em intervalos de tempo pré-definidos. O teste foi repetido três semanas após o tratamento com doxorrubicina. O estudo demonstrou concentrações de insulina e de lactato significativamente elevadas quando comparadas com o grupo controlo, nas várias medições. Além disso, quando repetiram o teste, três semanas após o tratamento com doxorrubicina, os autores demonstraram que os valores se mantinham acima do normal, tanto para os casos que sofreram remissão parcial, como para os que sofreram remissão total, mantendo sempre acima dos valores do grupo controlo. Os autores concluíram que é pouco provável que estas alterações dos valores se tenham mantido devido a efeitos do tratamento (Ogilvie *et al*, 1992). Em 1997, Ogilvie e colaboradores, repetiram o mesmo tipo de protocolo. Utilizaram um grupo controlo constituído por cães clinicamente normais e um grupo teste, de cães com neoplasias não hematopoiéticas não tratadas. Prévia e posteriormente à administração endovenosa de dextrose, foram recolhidas amostras de sangue, de forma a estabelecer o paralelo entre os valores de glucose, lactato e insulina, dos dois grupos. O protocolo foi repetido seis semanas após remoção cirúrgica da neoplasia, no caso do grupo teste. Os autores verificaram que os valores de lactato e insulina para o grupo teste, se encontravam estatisticamente mais elevados, do que aqueles correspondentes para o grupo controlo. Além disso, os cães submetidos a cirurgia, não apresentaram diminuição dos valores pós-cirúrgicos em relação aos pré-cirúrgicos. Os autores sugeriram que o aumento de lactato se devia a proporções microscópicas de tumor, que independentemente do seu tamanho, poderão ter conduzido a alterações no metabolismo dos hidratos de carbono (Ogilvie *et al*, 1997).

Em 1998, Lagutchik e colaboradores (citado por Allen & Holm, 2008), publicaram um estudo que media as concentrações de lactato em 109 cães com doença crítica e 20 cães clinicamente



normais. Os cães doentes foram divididos em 2 grupos: grupo de cães sobreviventes e grupo de cães não sobreviventes e subdivididos com base no tipo de doença ou lesão. Dos doentes, 95% apresentaram concentrações de lactato acima do valor de referência. Assim como valores superiores ao valor médio de lactato dos cães clinicamente normais. Neste estudo, 76% dos cães doentes sobreviveram e obtiveram alta do hospital. As concentrações médias de lactato dos não sobreviventes (incluindo animais que foram eutanasiados) eram superiores aos do grupo normal e aos dos doentes que sobreviveram. Os cães com politraumatismos graves, doença neurológica ou que haviam ingerido toxinas apresentaram concentrações de lactato sanguíneo significativamente superiores às dos cães clinicamente normais. Uma correlação positiva foi encontrada entre concentrações de lactato aumentadas e cães não sobreviventes (incluindo cães eutanasiados). Os resultados deste estudo apoiam a hipótese já demonstrada em Seres Humanos, que as medições de lactato em animais com doença crítica apresentam um valor prognóstico da gravidade da doença e da sua resolução (Allen & Holm, 2008).

Em 1998, um estudo retrospectivo, avaliou a relação entre as concentrações plasmáticas de lactato e a necrose gástrica e entre as concentrações plasmáticas de lactato e o prognóstico em 102 cães com torção/dilatação gástrica (TDG) (de Papp *et al*, 1999). Foram recolhidas informações sobre a história, sintomas, concentrações plasmáticas de lactato, tratamento médico e cirúrgico e resultado de cada caso, para realização de análise estatística. Os autores observaram que existia uma forte associação entre a concentração plasmática de lactato e o prognóstico em cães com TDG, uma vez que, cães com concentrações inferiores a 6,0mmol/L, apresentaram uma percentagem de sobrevivência (99%) significativamente superior à encontrada em cães com valores superiores a 6,0mmol/L (58%). Além disso, 74% dos cães com concentrações plasmáticas de lactato superiores a 6,0mmol/L apresentaram necrose gástrica, um valor significativamente superior quando comparadas com os 21% dos animais com lactato abaixo de 6,0mmol/L e simultaneamente necrose gástrica.

Com efeito, demonstrou-se a existência de uma correlação entre o aumento progressivo dos níveis de lactato e a percentagem de necrose gástrica. É importante referir, que neste estudo as medições de lactato foram obtidas antes do tratamento e medições seriadas de lactato poderiam ter revelado informações diferentes quanto ao prognóstico (de Papp *et al*, 1998).

Noutro estudo publicado em 2004, Nel e colaboradores determinaram as concentrações seriadas de lactato sanguíneo, em cães a serem tratados para Babesiose. A primeira recolha foi realizada no momento de entrada do animal no Hospital Veterinário, antes de ser aplicada a terapia contra a *Babesia canis*. Além da terapia específica para a etiologia, caso fosse necessária, foi realizada transfusão sanguínea e o tratamento das complicações. Após a instauração da terapia adequada, foram realizadas medições dos valores de lactato de 8 em 8

horas, durante um período de 24 horas. Os donos foram contactados duas semanas após a alta clínica do respectivo animal, de forma a poder agrupá-los em dois grupos, sobreviventes e não sobreviventes. No grupo dos sobreviventes verificou-se um decréscimo nas concentrações de lactato ao longo do tempo, enquanto no grupo dos não sobreviventes, as concentrações mantiveram-se acima das 40 mg/dL após 24 horas, tendo cima registados aumentos em dois casos (Nel *et al*, 2004). Um outro estudo realizado em cães com Babesiose, mediu lactato e glucose previamente ao tratamento (Jacobson & Lobetti, 2005). Tal como no estudo anterior, os autores estabeleceram dois grupos, o grupo dos sobreviventes e o grupo dos não sobreviventes. Foi observado que as concentrações de lactato e glucose, diferiram significativamente entre os grupos. Com efeito, a hipoglicémia e a hiperlactacidémia estavam associadas a um prognóstico reservado em pacientes com babesiose. Foi também, observada uma correlação negativa entre as concentrações de glucose e lactato, i. e., na maioria dos casos em que se a glucose se encontrava diminuída, o lactato encontrava-se aumentado (Jacobson & Lobetti, 2005).

Em 2005, deLaforcade e colaboradores, realizaram um estudo que se propunha comparar o estado ácido-base, a concentração de electrólitos, glucose e lactato entre o sangue periférico e o fluido de derrame pericárdico de cães com derrame pericárdico, assim como entre dois grupos de cães com derrame pericárdico, um com neoplasia e outro sem neoplasia. Tendo como objectivo determinar se estes parâmetros poderiam funcionar como factores de diagnóstico e diferenciação entre doença neoplásica e não neoplásica. Para tal, procederam à recolha de sangue para doseamento dos parâmetros e confirmação do diagnóstico de neoplasia através de ecocardiograma, biópsia, citologia do líquido de derrame ou necrópsia. Após um ano, contactaram os donos para estabelecer o desfecho clínico. Embora tenha sido encontrada uma diferença significativa entre os valores de pH dos dois grupos, os autores sugeriram que estes não eram suficientes para fazer a correlação clínica de utilização de medição do pH como factor preditivo de neoplasia pois ocorreu uma sobreposição de valores bastante ampla. O mesmo se passou com os valores de lactato, que se encontravam significativamente superiores no grupo de cães com neoplasia, mas que também eles, se sobrepuseram aos valores do grupo com derrame não associado a neoplasia. Os autores aconselharam que estes parâmetros não sejam utilizados no diagnóstico de neoplasia em cães com derrame pericárdico (deLaforcade *et al*, 2005).

Ainda em 2005, McMichael e colaboradores, realizaram um estudo com o objectivo de determinar o intervalo de referência para valores venosos de lactato, obtidos em cães recém-nascidos e saudáveis. Os cachorros foram submetidos a recolhas de sangue aos 4, 10, 16, 28, 70 e 80 dias. Ao mesmo tempo, foi obtida uma amostra de sangue de cada um de 30 cães

adultos. O estudo revelou que as concentrações de lactato em cachorros saudáveis é significativamente superior às concentrações de cães adultos, nos primeiros 28 dias de vida. A partir dos 70 dias de vida, deixou de ser possível distinguir entre adultos e cachorros. O aumento de concentrações de lactato nos recém-nascidos, poderia estar relacionadas com a permeabilidade da barreira hemato-encefálica, que permite a passagem de lactato para o cérebro (Hellmann, Vannucci & Nardis, 1982), e também com a capacidade hepática de realizar a gluconeogénese ser limitada após o nascimento. É possível que estes níveis aumentados de lactato durante o período neo-natal, constituam como uma medida profiláctica em caso de hipoglicémia (McMichael *et al*, 2005).

Este estudo contribuiu, por um lado, para o estabelecimento de valores de referência para recém-nascidos e cachorros jovens e da sua comparação aos valores em adultos, e por outro lado, para a utilização destes valores na avaliação de possíveis estados de doença (McMichael *et al*, 2005).

Stevenson e colaboradores (2007) realizaram um estudo em 80 cães doentes, admitidos para fluidoterapia, no qual realizaram medições seriadas dos níveis de lactato (às zero e às 6 horas). O seu objectivo passava por determinar se os níveis de lactato se encontravam associados ao prognóstico em cães doentes que necessitassem de fluidoterapia. Para tal, foi previamente definido um intervalo de referência para os valores de lactato.

Os autores verificaram que nos casos em que a hiperlactacidémia não melhorava em mais de 50% de uma medição para a outra, a mortalidade estava significativamente associada com as concentrações de lactato às 6 horas (Stevenson *et al*, 2007).

Em 2009, Sullivan e colaboradores (2009) estudaram as concentrações sanguíneas de lactato em cães anestesiados com doença intracraniana. Neste estudo, os autores tentaram verificar se o aumento de produção de lactato observado em Seres Humanos, quando existem doenças localizadas no sistema nervoso central, alterações no metabolismo cerebral, actividade imunitária ou morte celular, poderia também ocorrer em pacientes veterinários. Estes autores observaram que cães anestesiados com meningioma e hidrocefalia apresentavam concentrações de lactato sanguíneo significativamente mais elevadas quando comparados com cães com doença dos discos intervertebrais. Os autores sugeriram que este aumento podia dever-se a um aumento de produção local de lactato por hipóxia do tumor e do tecido circundante, alterações no metabolismo dos hidratos de carbono ou ambos. Já os casos de hidrocefalia podiam resultar de stress oxidativo, disfunções metabólicas e lesões celulares. Outra hipótese avançada foi, tal como demonstrado em traumatismos cerebrais, o aumento da pressão intracraniana pode conduzir a libertação sistémica de catecolaminas (especificamente a noradrenalina), as quais podem aumentar a produção periférica de lactato (Sullivan *et al*,

2009).

### **3.5. Estudos sobre lactato em animais - Gatos**

Chan e colaboradores (2005) determinaram como intervalo normal para lactato sérico em gatos, valores entre os 0,4 e 4,0 mmol/l. Sabendo que a produção de lactato aumenta com o exercício, bem como com a resistência à contenção, a hiperglicémia induzida pelo stress é um achado frequente em perfis bioquímicos felinos (Rand *et al*, 2002). É também frequente a observação de hiperglicémia de stress associada a níveis de lactato elevados em gatos (Rand *et al*, 2002).

O lactato medido ao mesmo tempo que a glucose pode portanto ajudar a diferenciar a hiperglicémia de stress de doença subjacente (Allen & Holm, 2008). Sabe-se também que os eritrócitos felinos podem conduzir a um aumento do lactato como resultado da hiperglicémia e como tal, pode ser necessário um cuidado especial e específico com as amostras, de forma a garantir resultados correctos (Christopher & O'Neil, 2000).

Segundo o estudo realizado por Chan e colaboradores (2006), gatos em estado crítico apresentaram concentrações de lactato, glucose, glucagon, cortisol e noradrenalina superiores às concentrações em gatos saudáveis usados no grupo controlo. Apresentaram também, concentrações de insulina inferiores ao grupo controlo. Estas alterações no metabolismo dos hidratos de carbono foram semelhantes às encontradas em Seres Humanos nas mesmas condições (Chan *et al*, 2006).

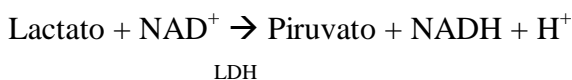
Em Medicina Veterinária, são necessários mais estudos para avaliar a utilização de medições seriadas de lactato, em vários tipos de doença, de forma para a que este possa ser estabelecido como um indicador de prognóstico fiável. As medições de lactato implicam um procedimento relativamente simples e comum na prática clínica, pelo que, ao serem validadas como factor de prognóstico, apresentam um ponto positivo na monitorização de pacientes com doença crítica (Allen & Holm, 2008).

Dado o quase inexistente número de estudos realizados em gatos, a importância da validação da monitorização do lactato nesta espécie, manifesta-se por si só (Chan *et al*, 2006; Allen & Holm, 2008).

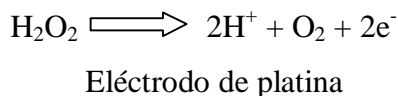
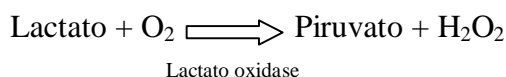
#### **4. Comparação entre alguns dos aparelhos medidores de lactato disponíveis no mercado**

Devido à utilização cada vez mais frequente do lactato na monitorização de pacientes com doença crítica, tem-se verificado o desenvolvimento crescente de meios de medição mais rápidos, eficazes e de fácil execução. Classicamente, para se realizar a medição do lactato, eram necessárias amostras com grande volume de sangue e o seu envio para laboratórios especializados, o que dificultava a obtenção do resultado e aumentava o tempo de espera. Hoje em dia, com os avanços tecnológicos, os novos aparelhos de medição necessitam de amostras com menor volume e utilizam sangue total. Esta técnica permitiu eliminar assim o tempo necessário para a coagulação e centrifugação, assim como o tempo de espera de envio para o laboratório. Consegue-se então que a medição seja realizada junto ao paciente por uma pessoa que não tenha formação específica na área laboratorial. Apesar destes avanços, continua a ser importante a qualidade na recolha e na manutenção da amostra para que os resultados sejam consistentes e de confiança (Jacobs *et al*, 1993).

Dois dos métodos mais utilizados para medir o lactato são a colorimetria enzimática e a amperometria enzimática. A colorimetria enzimática faz recurso a absorção espectrométrica para medir o NADH produzido aquando da oxidação do L-lactato pelo  $\text{NAD}^+$ , reacção que é catalizada pela LDH. O NADH obtido é detectado por quantificação da absorção de luz a 340nm, sendo proporcional à quantidade de lactato na amostra. Este procedimento demora cerca de uma hora e é o método mais frequentemente utilizado na actualidade. As amostras devem ser recolhidas para tubos que contenham fluoreto de sódio e colocadas em gelo para diminuir a produção de lactato pelos eritrócitos, sempre que as amostras sejam analisadas num intervalo superior a meia hora, segundo Toffaletti, em 1991 (citado por Allen & Holm, 2008). Caso contrário, estes requisitos não são necessários.



Ainda Toffaletti, em 1991 (citado por Allen & Holm, 2008) explica que a amperometria enzimática realiza uma medição de lactato baseada na quantidade de peróxido de hidrogénio produzido pela reacção do L-lactato com uma membrana que contém lactato oxidase. O peróxido de hidrogénio libertado é oxidado por um potencial eléctrico que lhe é aplicado, o que irá gerar uma corrente de electrões num eléctrodo de platina. Esta corrente é medida num amperómetro e a sua intensidade é proporcional ao nível de lactato na amostra.



A amperometria enzimática é o método mais utilizado hoje em dia na maioria dos aparelhos de gasimetria, uma vez que é de rápida execução, utiliza sangue total e permite obter resultados em 2 minutos. As amostras não devem ser colocadas em tubos que contenham fluoreto ou citrato de sódio devido à interferência destes anticoagulantes com a medição de lactato (Allen & Holm, 2008).

Hoje em dia, muitas clínicas Veterinárias já têm na sua posse medidores de lactato portáteis a preços acessíveis e de uso fácil e conveniente, que lhes permite obter os valores do mesmo, sem grandes custos e perda de tempo associados. Outra vantagem destes medidores é permitirem a utilização por pessoal não especializado mas que pode ser treinado na sua utilização (Allen & Holm, 2008).

Os medidores de lactato disponíveis para os Médicos Veterinários incluem o “Nova®” (Nova Biomedical Corporation, Canadá), “i-Stat®” (Diagnostics Abbott Laboratórios, Lda, Portugal) e “Accusport®” (Roche Diagnostics, Portugal). O Nova® é um medidor de bancada de gases sanguíneos/bioquímicas sanguíneas, que permite realizar medições de lactato através da amperometria enzimática a partir de sangue total, em minutos.

O i-Stat® é um medidor portátil que também mede o lactato através da amperometria enzimática numa amostra de sangue total. Para utilizar o método do i-Stat®, é necessária uma amostra mínima de 0,3 ml de sangue arterial ou venoso. A medição deve ser realizada até 3 minutos após a recolha da amostra, já que os valores podem aumentar até 70% em 30 minutos, a 25°C, como resultado da glicólise (Allen & Holm, 2008). O intervalo de referência do i-Stat® para valores normais é de 0,3-2,0 mmol/l (Tietz, 1994).

O Accusport® é um medidor portátil que usa a determinação enzimática e fotométrica por reflectância, para ler o lactato na porção plasmática de sangue total. A amostra pode ser de sangue arterial ou venoso. O intervalo de valores de lactato medidos pelo Accusport® é de 0,8-22mmol/L em sangue total e de 0,7-27mmol/l em plasma (Tietz, 1994). Uma amostra de sangue de 20-25µl é colocada na tira do medidor que separa os eritrócitos do plasma e expõe o plasma ao filme de teste, seguindo-se uma mudança de cor, que é medida por fotometria de reflectância (Kiragga *et al*, 2008).

As diferenças nas medições de lactato sanguíneo baseadas no local de recolha (venosa vs arterial) foram investigadas por vários autores (Assunção *et al*, 1997; Hughes *et al*, 1999). Um dos estudos caracterizou as concentrações do lactato plasmático obtidas a partir de amostras recolhidas em diferentes locais normalmente utilizados. No estudo recorreu-se a 60 cães saudáveis, não anestesiados, tendo como objectivo, criar um intervalo de referência para os valores de lactato em cães (Hughes *et al*, 1999) Os locais de recolha escolhidos incluíram a veia jugular, veia cefálica e artéria femoral. As amostras foram obtidas dos três locais, em todos os cães, no espaço de cinco minutos. Os resultados analisados mostraram que os níveis de lactato foram mais elevados na veia cefálica, seguidos pelos da artéria femoral e veia jugular, embora no geral, as diferenças não tenham sido clinicamente significativas. Valores aumentados na segunda e terceira recolhas foram relacionados com a contenção e aumento da actividade muscular. Um intervalo de referência para o lactato plasmático foi estabelecido entre 0,3-2,5 mmol/L para cães adultos e saudáveis, baseado nos dados recolhidos durante este estudo. Os autores concluíram que a recolha de sangue de locais venosos são mais convenientes, menos dolorosos para o paciente e mais seguros de utilizar (Allen & Holm, 2008).

## **5. Estudo das alterações do metabolismo dos hidratos de carbono em gatos com neoplasia**

O presente estudo foi realizado no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa durante o período compreendido entre Março de 2009 e Fevereiro de 2010, incidindo inicialmente sobre a população de gatas, que se apresentaram à consulta externa, com evidência de neoplasia mamária não complicada e encaminhada para cirurgia de remoção. Posteriormente e devido à baixa afluência de casos compatíveis com os requisitos do estudo, a população abrangida foi alargada a todos os gatos, macho e fêmea, que se apresentassem com algum tipo de neoplasia, incluindo os que não tivessem indicação cirúrgica. Para além da população afectada pelos diferentes tipos de neoplasia, pretendeu-se estabelecer um paralelo comparativo com uma população saudável e isenta de neoplasia.

**5.1. Objectivo:** Este protocolo experimental teve como objectivo avaliar diversos parâmetros relativos ao metabolismo dos hidratos de carbono (cortisol, lactato, insulina, glucose e adrenalina), de forma a determinar se, numa população de gatos com neoplasia, estes apresentavam alterações, quando comparados com uma população de gatos saudável e isenta de neoplasia. Ao mesmo tempo que procurava confirmar a existência destas alterações, pensadas como indicadores das fases iniciais da caquexia oncológica, particular atenção foi dada ao parâmetro sanguíneo, lactato. Além disso, teve como segundo objectivo, procurar estabelecer estes mesmo parâmetros como indicadores de prognóstico em gatos com neoplasia.

**5.2. Hipótese nula (H0):** Será que na espécie felina com neoplasia não existem alterações significativas dos parâmetros relacionados com o metabolismos dos hidratos de carbono?

**5.3. Hipótese Alternativa:** Será que na espécie felina com neoplasia existem alterações significativas dos parâmetros relacionados com o metabolismos dos hidratos de carbono?



## **5.4. Materiais e Métodos**

### **5.4.1. Critérios de inclusão e critérios de exclusão**

Os exames complementares preliminares (ver anexo 1) consistiram na realização de (i) hemograma (contagem total de leucócitos, eritrócitos e plaquetas, hemoglobina, hematócrito, Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) e leucograma); (ii) análises bioquímicas gerais (albumina, alanina aminotransferase (ALT/GPT), bilirrubina total, creatinina, fosfatase alcalina sérica (FAS), glucose, proteínas totais e ureia), e (iii) a realização do teste rápido FIV/FeLV. No caso do grupo Neoplasia, foram também realizados exames complementares imagiológicos, isto é, radiografias torácicas em plano latero-lateral e ventro-dorsal. Estes exames tinham como objectivo eliminar animais que pudessem já apresentar metástases pulmonares, as quais poderiam implicar focos secundários de alterações metabólicas (Ogilvie *et al*, 1997).

### **5.4.2. Critérios de inclusão e critérios de exclusão do grupo Controlo**

Os animais incluídos no grupo Controlo, foram seleccionados com base na anamnese, no exame físico e em exames complementares de diagnóstico. Estes animais encontravam-se saudáveis e sem evidências de doença que pudesse afectar as medições a realizar. Foram definidos como critérios de exclusão:

- exposição recente a esteróides exógenos ou anestesia (correspondente a um período inferior a 3 semanas);
- obesidade;
- presença de doença infecciosa;
- sinais evidentes de caquexia;
- existência de neoplasia, metástases e/ou realização de tratamento quimioterápico prévio;
- insuficiência renal, hepática e/ou doença endócrina.

#### 5.4.3. Critérios de inclusão e critérios de exclusão do grupo Neoplasia

Os animais incluídos no grupo Neoplasia, foram seleccionados com base na anamnese, no exame físico e em exames complementares de diagnóstico mas principalmente com base na existência de neoplasia. Foram definidos como critérios de exclusão:

- todos os critérios de exclusão definidos para o grupo controlo;
- presença de metástases visíveis à radiografia torácica.

#### 5.4.4. Administração endovenosa de Glucose a 30%

Foi estabelecido um protocolo de administração de glucose e recolha de amostras de sangue baseado no estudo de Ogilvie *et al* (1992).

Todos os gatos do estudo foram submetidos a jejum de 12 horas (figura 8), de forma a eliminar a influência da ingestão nas concentrações hormonais (Chan *et al*, 2006). Após este período, foi recolhido sangue, por meio de catéter colocado na veia cefálica, para determinação dos parâmetros no tempo “zero”. De seguida, foi administrada na veia cefálica, uma solução de glucose a 30%, em bólus endovenoso na dose de 500 mg/kg de peso vivo. Este procedimento foi realizado em todos os gatos.

**Figura 8:** Dois dos gatos incluídos no grupo Neoplasia (Silva, 2009).



#### 5.4.4. Recolha das amostras de sangue subsequentes e seu processamento

As amostras subsequentes foram recolhidas também por meio de catéter colocado na veia periférica contralateral à utilizada para administração da glucose a 30%. Todas as amostras foram colocadas em tubos secos e, de cada uma delas, foi retirada uma gota para medição dos

valores de lactato no medidor portátil Accutrend Plus® (Roche Diagnostics, Portugal), semelhante ao analisado no estudo de Allen e Holm (2008).

O tempos de colheita de sangue foram 0, 30 e 60 minutos após a administração do bólus endovenoso de glicose a 30%. O tempo “zero” correspondeu à primeira recolha de sangue, prévia ao momento de administração da glicose a 30%.

As amostras foram processadas de imediato, centrifugadas a 2500 rpm durante 15 minutos, usando uma centrífuga P Selecta Cencom®. O soro obtido foi colocado em tubos Eppendorf (figura 9), os quais foram mantidos a -96°C, em ultracongelador. Estas amostras de soro foram posteriormente enviadas para o laboratório DNATech®, de forma a serem processadas e avaliados os restantes parâmetros (cortisol, insulina, glicose e adrenalina). Os métodos utilizados para a determinação dos valores de glicose, adrenalina, insulina e cortisol foram, respectivamente, o método enzimático de Springer, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) e método imunoenzimático.

**Figura 9:** Amostras e recolha de soro (Silva, 2009).



### 5.5. Análise Estatística

Os dados recolhidos durante a realização do protocolo foram analisados através do teste estatístico ANOVA (Análise de Variância), utilizando o programa de software Microsoft® Excel® 2004 for Mac, Version 11.5.8.

Com este teste pretendeu-se determinar se os parâmetros avaliados para as duas populações estavam ou não significativamente relacionados com a população em questão (presença ou não de neoplasia), com o enquadramento temporal (zero, 30 e 60 minutos) e se, cada um dos parâmetros, era ou não significativo em si mesmo, através da testagem da hipótese nula.

Foram usados dois tipos de ANOVA, a Análise de Variância a um factor e a Análise de Variância a dois factores, sem replicação.

A ANOVA a um factor permitiu determinar se existe uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos e foi utilizada para determinar se a glucose, o cortisol, a insulina, a adrenalina e o lactato apresentavam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos Controlo e Neoplasia, a cada momento (zero, 30 e 60 minutos). A hipótese nula foi rejeitada (ou seja, a ausência de diferença estatisticamente significativa) quando o valor de  $p < 0,05$  e aceite quando  $p > 0,05$ . Nestes casos, também o teste estatístico (ou seja, F) tem de ser maior ou menor que o valor crítico (ou seja,  $F_{crit}$ ), respectivamente, para que a variância seja diferente ou não para os mesmos casos.

A ANOVA a dois factores sem replicação permitiu determinar também, se a hipótese nula foi aceite ou rejeitada, ou seja, se as médias eram ou não diferentes a um intervalo de confiança de 95%. Também aqui se aplicou, que a hipótese nula seria rejeitada quando o valor de  $p < 0,05$  e aceite quando  $p > 0,05$ .

Para além destes dois testes, foi realizada uma análise estatística descritiva de cada parâmetro no tempo, comparando os dois grupos.

## **5.6. Apresentação dos resultados**

### **5.6.1. População de estudo – Características**

A população em estudo consistiu em dois grupos de cinco gatos cada, de raça Europeu Comum, com idades de  $3,75 \pm 2,66$  anos (média±erro padrão) e  $9,6 \pm 2,97$  anos (média±erro padrão) e pesos de  $3,74 \pm 0,70$  kg (média±erro padrão) e  $4,7 \pm 1,58$  kg (média±erro padrão), para os grupos “Controlo” e “Neoplasia”, respectivamente. Não foi detectada uma diferença significativa entre os dois grupos, quando analisados os pesos através da análise de variância ( $p > 0,05$ ). O mesmo não ocorreu com as idades, já que a diferença entre os dois grupos, foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). O grupo Controlo foi constituído por quatro gatas e um gato e o grupo Neoplasia por três gatas e dois gatos. No grupo Neoplasia, os animais seleccionados apresentavam vários tipos de neoplasia, tais como neoplasia retrobulbar dos tecidos moles, adenocarcinoma jejunal, linfoma ou carcinoma mamário (duas gatas).

**Tabela 5:** Características do Grupo Controlo

Parâmetro	Valor
Peso médio (kg) $\pm$ erro padrão	3,74 $\pm$ 0,70
Peso máx (kg)	4,9
Peso mín (kg)	3,1
Idade média (anos) $\pm$ erro padrão	3,75 $\pm$ 2,66
Idade máx (anos)	6
Idade mín (anos)	0,75
Sexo Feminino (n)	4
Sexo Masculino (n)	1

**Tabela 6:** Características do Grupo Neoplasia

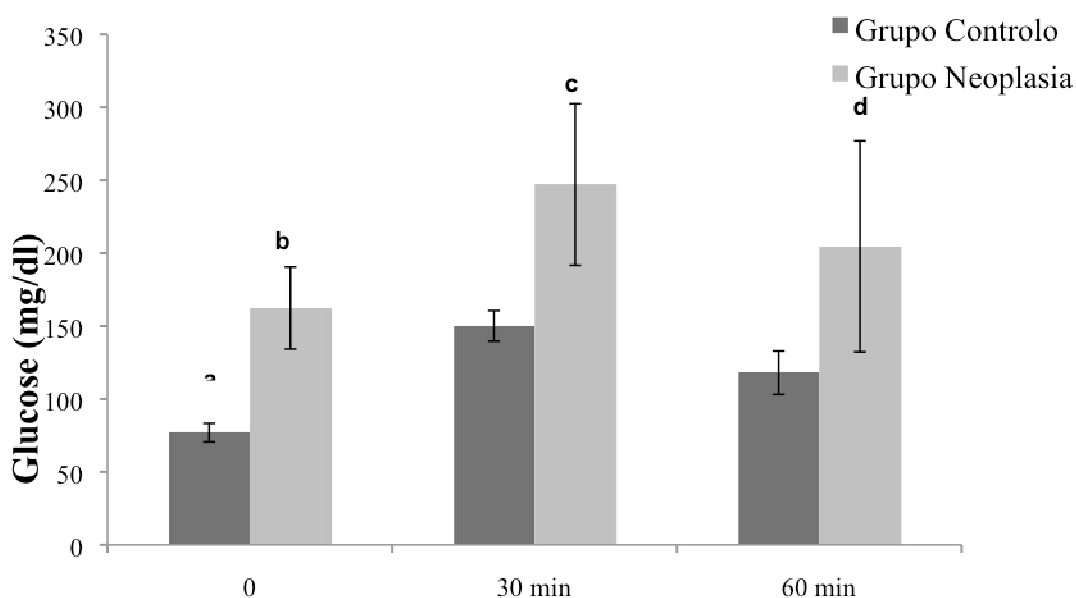
Parâmetro	Valor
Peso médio (kg) $\pm$ erro padrão	4,7 $\pm$ 1,58
Peso máx (kg)	6,8
Peso mín (kg)	3,1
Idade média (anos) $\pm$ erro padrão	9,6 $\pm$ 2,97
Idade máx (anos)	14
Idade mín (anos)	6
Sexo Feminino (n)	3
Sexo Masculino (n)	2

### 5.6.2. Glucose

Este estudo foi realizado em duas fases, com adaptações e melhoramentos de protocolo, de forma a que, a obtenção dos resultados fosse a mais correcta e completa possível. Tendo em conta a pequena amostra que surgiu na primeira fase, nem todos os animais utilizados têm disponíveis os valores de glucose (ver anexo 2). Isto é, na primeira fase do estudo, realizada

durante o período de estágio curricular, a medição da glicemia foi apenas feita no tempo zero, pelo que, apenas os animais da segunda fase do estudo, apresentam os valores para os três tempos: zero, 30 e 60 minutos. Ainda assim, os testes estatísticos adequados foram aplicados e foi possível realizar a sua análise, inseridos num todo de grupos “Controlo” ou “Neoplasia”. O valor médio de glucose encontrado para o grupo Controlo ( $76,98 \pm 6,32$  mg/dl) foi estatisticamente inferior ao valor médio encontrado para o grupo Neoplasia ( $162,4 \pm 28,17$  mg/dl); no tempo zero ( $p < 0,05$ ; a e b). A outra diferença estatisticamente significativa encontrada nos valores de glucose, verificou-se entre os tempos 30 e 60 do grupo Neoplasia ( $p < 0,05$ ; c e d).

**Gráfico 1:** Comparação entre valores médios de glucose, nos tempos zero, 30 e 60 minutos, entre os grupos Controlo e Neoplasia. As barras representam a média  $\pm$  erro padrão. As diferentes letras indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).



### 5.6.3. Cortisol

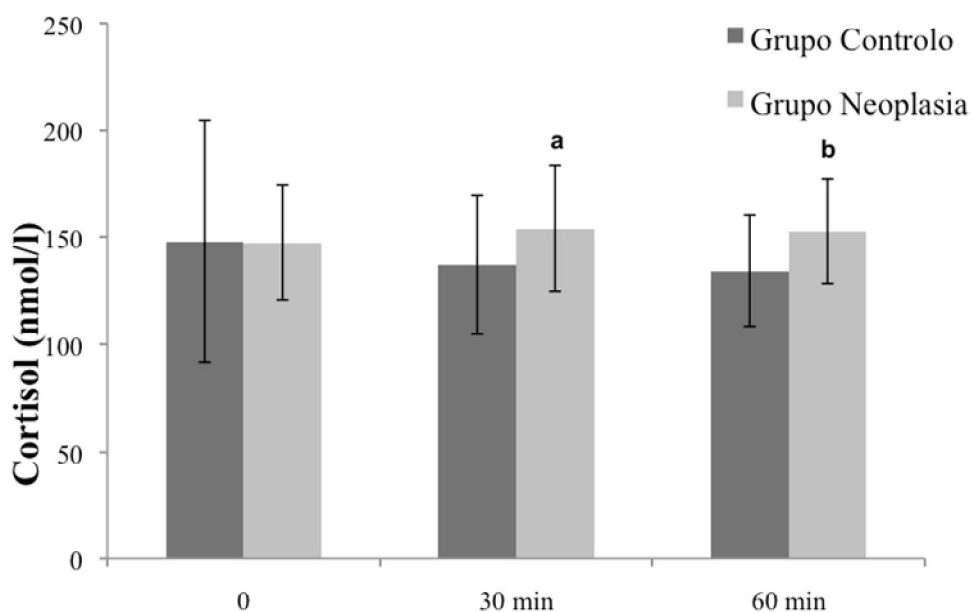
O cortisol, a par da insulina e do lactato, foi um parâmetro medido em todos os animais (ver anexo 2).

Os valores médios de cortisol para o grupo Controlo ( $148,07 \pm 56,36$  nmol/l;  $137,15 \pm 32,57$  nmol/l;  $134,30 \pm 25,97$  nmol/l) nos três diferentes tempos, respectivamente (zero, 30 e 60 minutos), apresentaram-se próximos dos valores médios encontrados para o grupo Neoplasia ( $147,52 \pm 26,89$  nmol/l;  $153,93 \pm 29,32$  nmol/l;  $152,84 \pm 24,28$  nmol/l). Não se encontrou

diferença estatisticamente significativa ( $p>0,05$ ) entre os dois grupos para cada tempo. No entanto, os valores do grupo Neoplasia após administração de glucose a 30% encontraram-se superiores ao do grupo Controlo.

Foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os intervalos 30 e 60 do grupo Neoplasia ( $p<0,01$ ; a e b).

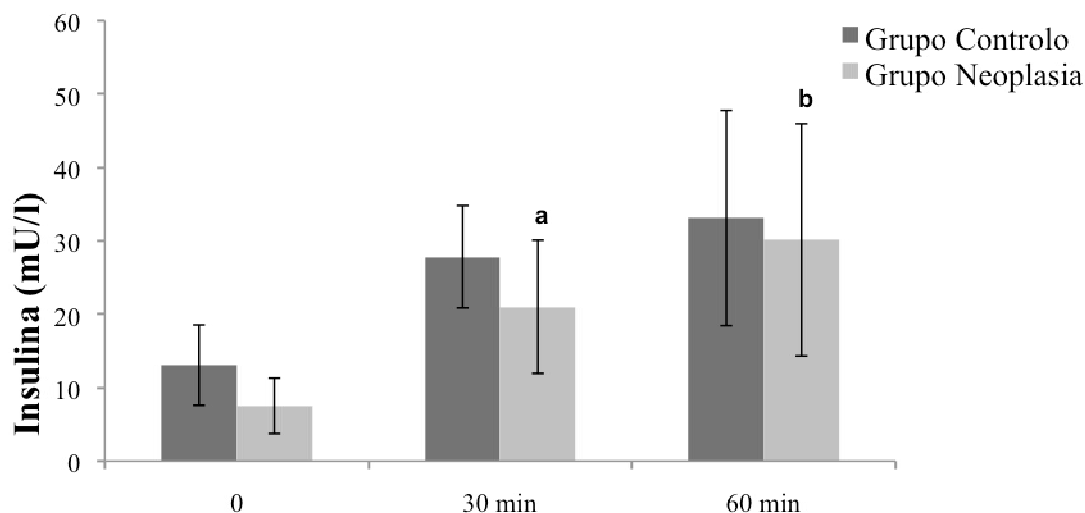
**Gráfico 2:** Comparação entre valores médios de cortisol, nos tempos zero, 30 e 60 minutos, entre os grupos Controlo e Neoplasia. As barras representam a média $\pm$ erro padrão. As diferentes letras indicam diferenças significativas ( $p<0,01$ ).



#### 5.6.4. Insulina

Os valores médios de insulina do grupo Controlo ( $13,08\pm5,48$  mU/l;  $27,82\pm6,97$  mU/l;  $33,1\pm14,65$  mU/l) foram semelhantes aos valores médios do grupo Neoplasia ( $7,52\pm3,78$  mU/l;  $21,02\pm9,07$  mU/l;  $30,14\pm15,81$  mU/l), respectivamente, para os três tempos avaliados, zero, 30 e 60 minutos (ver anexo 2). No entanto, quando comparados os testes dentro de cada um dos grupos, pudemos verificar que apesar de não haver uma diferença estatisticamente significativa dentro do grupo Controlo, os valores dos tempos 30 e 60 minutos apresentaram uma tendência ( $p=0,08$ ) para um aumento de insulina sérica com o tempo. O mesmo foi observado com os valores entre os tempos zero e 30 minutos do grupo Neoplasia ( $p=0,06$ ). Os gatos do grupo Neoplasia apresentaram um aumento estatisticamente significativo nos níveis de insulina dos 30 para os 60 minutos ( $p=0,05$ ; a e b).

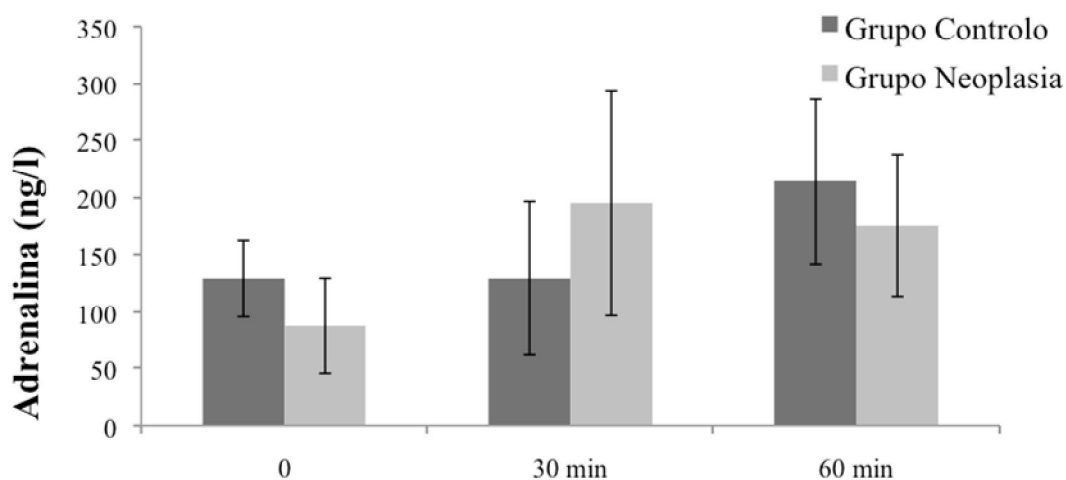
**Gráfico 3:** Comparação entre valores médios de insulina, nos tempos zero, 30 e 60 minutos, entre os grupos Controlo e Neoplasia. As barras representam a média $\pm$ erro padrão. As diferentes letras indicam diferenças significativas ( $p<0,05$ ).



#### 5.6.5. Adrenalina

Como a adrenalina poderá influenciar os valores de lactato e como também poderá estar aumentada na sequência de uma situação de stress, decidimos incluí-la nos parâmetros a avaliar na amostra.

**Gráfico 4:** Comparação entre valores médios de adrenalina, nos tempos zero, 30 e 60 minutos, entre os grupos Controlo e Neoplasia. As barras representam a média $\pm$ erro padrão.





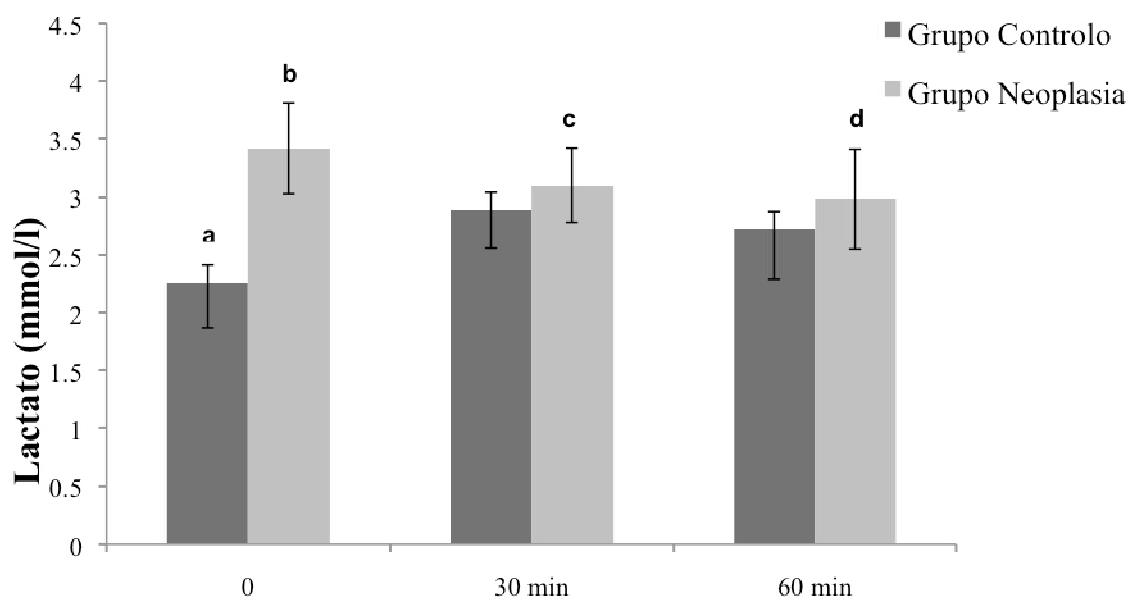
### 5.6.6. Lactato

A concentração sérica de lactato, o parâmetro principal do estudo, foi medido com recurso a um medidor portátil Accutrend® (Roche Diagnostics, Portugal).

O valor médio de lactato para o grupo Controlo, no tempo zero ( $2,26 \pm 0,15$  mmol/l) foi inferior ao valor médio encontrado para o mesmo tempo, no grupo Neoplasia ( $3,42 \pm 0,39$  mmol/l) ( $p < 0,05$ ).

No grupo Neoplasia verificou-se uma redução na concentração sérica de lactato, dos 30 para os 60 minutos ( $p < 0,01$ ). No mesmo grupo, entre o zero e os 30 minutos, parece haver uma tendência para a existência de uma diferença estatisticamente significativa, já que o valor foi de 0,096.

**Gráfico 5:** Comparação entre valores médios de lactato, nos tempos zero, 30 e 60 minutos, entre os grupos Controlo e Neoplasia. As barras representam a média  $\pm$  erro padrão. As diferentes letras indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$  entre a e b;  $p < 0,01$  entre c e d).



## 5.7. Discussão dos Resultados

A procura de indicadores de prognóstico, de sinais precoces de alterações a nível dos vários metabolismos (hidratos de carbono, lípidico, proteico), de terapêuticas novas e/ou alternativas, entre outros, em animais com neoplasia, tem vindo a ser cada vez maior ao longo dos anos. Os exemplos observados em humanos têm vindo a fundamentar as bases de estudos mais alargados e mais específicos para as espécies domésticas, quer para estabelecer uma relação recíproca quer para compreender melhor a fisiopatologia dos diferentes tipos de neoplasias, de forma a melhor prever a sua evolução e a permitir um acompanhamento mais adequado.

O presente protocolo foi baseado em estudos anteriores realizados por Ogilvie e colaboradores (1992) e Ogilvie e colaboradores (1997), sobre alterações no metabolismo dos hidratos de carbono, em cães com linfoma e com doenças não hematopoiéticas, respectivamente, e adaptado às circunstâncias e espécie em estudo. A selecção da espécie felina como alvo do estudo, passou pela tentativa de superar a reduzida quantidade de informação existente sobre gatos com neoplasia e a sua relação com o metabolismo dos hidratos de carbono.

Os estudos realizados anteriormente em Medicina Veterinária, sobre alterações no metabolismo dos hidratos de carbono, variações de lactato e/ou estabelecimento de factores de prognóstico, quer em presença de neoplasia, quer em presença de algum tipo de doença que implicasse um estado crítico, privilegiaram cães e equinos.

São disso exemplo, estudos em cães com linfoma (Ogilvie *et al*, 1992), torção ou dilatação gástrica (de Papp *et al*, 1999), consecutivamente doentes (Stevenson *et al*, 2007), com *Babesia canis* (Nel *et al*, 2005), com neoplasias não hematopoiéticas (Ogilvie *et al*, 1997), cachorros recém-nascidos (McMichael *et al*, 2005), cadelas com piómetra (Hagman *et al*, 2009) e equinos recém-nascidos (Henderson *et al*, 2008). Num outro estudo, gatos internados em estado crítico (em cuja população em estudo, se encontravam incluídos gatos com neoplasia) foram submetidos a medições de vários parâmetros relativos ao metabolismo dos hidratos de carbono (Chan *et al*, 2006).

O objectivo principal do estudo de Ogilvie e colaboradores (1992) foi estabelecer o lactato e a insulina como factores de prognóstico na remissão de neoplasia (linfoma) em cães após remissão completa. Ogilvie e colaboradores (1997) procuraram determinar, se em cães com neoplasia, existiam alterações no metabolismo dos hidratos de carbono, sem a evidência de perda de peso ou caquexia. Chan e colaboradores (2006) procuraram caracterizar as alterações

do metabolismo dos hidratos de carbono e relacioná-las com o desenvolvimento de hiperglicémia, em gatos doentes em estado crítico.

O objectivo inicial do presente estudo era utilizar os valores sanguíneos de lactato como diagnóstico precoce de caquexia oncológica, como principal factor de prognóstico, e os valores de glucose e insulina como factores adjuvantes. Além deste, era também objectivo do estudo, verificar se as alterações metabólicas descritas em outras espécies, estavam também presentes na espécie felina.

O protocolo inicial propunha-se realizar as medições e respectiva administração de glucose a 30% em dois momentos, um pré-cirúrgico, em que o ambiente estaria influenciado pela presença da neoplasia e, posteriormente, num momento pós-cirúrgico, seis semanas após a excisão cirúrgica da neoplasia, já fora da influência neoplásica, assim como dos elementos anestésicos. Aqui entra a importância da ausência de metástases, factor verificado no momento de escolha da amostra, através das radiografias torácicas. Com efeito, sendo um estudo inicialmente focalizado na progressão das alterações do metabolismo dos hidratos de carbono e sua relação com a presença e remoção da neoplasia, a existência de metástases impossibilitaria a segunda parte do estudo. Infelizmente, por indisponibilidade dos donos, por falta de tempo e por insuficiência de casuística, foi necessária a mudança do protocolo, com o alargamento do grupo de estudo e abolição do segundo momento de recolha de amostras. Assim, o objectivo de estabelecer os factores medidos (em especial, o lactato) como possíveis indicadores de prognóstico teve de ser abandonado. No entanto, as alterações nos parâmetros que nos propusemos estudar, são indicadores precoces de caquexia associada a neoplasia e pudemos, através da sua existência e da comparação com um grupo Controlo, seleccionado pelo seu estado hígido normal, procurar estabelecê-los como indicadores precoces de alterações no metabolismo dos hidratos de carbono associadas a neoplasia, possivelmente indicadores de caquexia oncológica.

Apesar da mudança de protocolo, os critérios de inclusão e exclusão foram mantidos, pelo que, a ausência de metástases continuou a ser um parâmetro importante. A sua existência implicaria um estadio mais avançado da neoplasia, provavelmente com sintomatologia clínica de caquexia já presente. Se assim fosse, fugiria ao intuito do estudo, de procurar confirmar a existência de alterações a nível do metabolismo dos hidratos de carbono, em gatos sem sinais clínicos de caquexia oncológica, ou seja, numa fase precoce desta.

Estes dados, se confirmados, poderão ser úteis não só numa melhor compreensão da fisiopatologia da relação hospedeiro-neoplasia em gatos, mas também estabelecer uma via de possível intervenção terapêutica, de forma a melhorar o bem-estar e prevenir complicações graves.

Sendo o lactato o factor principal do estudo, foram excluídos animais cujos exames indicassem insuficiência renal ou hepática, já que estes dois órgãos são responsáveis pela eliminação deste metabolito e a sua disfunção pode implicar aumentos sanguíneos de lactato derivados de diminuição de excreção em vez de representar um aumento de produção (Pittard, 1999; Cano, 2002; Allen & Holm, 2008).

Rand e colaboradores (2002) observaram aumentos significativos nos níveis de glicémia e aumento na produção de lactato, relacionados com a resistência à contenção em gatos. O lactato, produzido através de movimentos vigorosos de resistência à contenção, acumula-se e é oxidado a dióxido de carbono e água ou usado para a produção de glucose e glicogénio tecidular, via gluconeogénese, contribuindo assim para a hiperglicémia verificada (Rand *et al*, 2002). Este, foi um facto tido em consideração e por isso, animais extremamente excitáveis ou muito sensíveis foram excluídos. Além disso, foi feito um esforço por reduzir o stress a que os animais incluídos no estudo, foram sujeitos, através de medidas como minimização de manipulação, de tempo em contacto com os executantes e do ruído.

Outro critério de exclusão eliminou animais submetidos a terapia recente ou presente com corticosteróides, já que também estes induzem um aumento do lactato a nível sanguíneo em cães saudáveis (Boysen *et al*, 2009) e de glucose em Seres Humanos saudáveis (Romanholi & Salgado, 2007), podendo também causar os mesmos efeitos em gatos. A administração de corticóides pode provocar diabetes mellitus (Romanholi & Salgado, 2007). Os corticosteróides interferem no metabolismo da glucose através da inibição da captação periférica de glucose pelo músculo e tecido adiposo, do aumento da gluconeogénese hepática (mesmo processo que induz o aumento da concentração de lactato sanguíneo) e permitem uma acção mais marcada do glucagon e catecolaminas (Romanholi & Salgado, 2007). Estas alterações podem contribuir para um aumento da glicémia, que em conjunto com um aumento das concentrações de lactato, afectariam as medições realizadas durante o protocolo e adulterariam os resultados.

Também os animais que tivessem sido submetidos a anestesia recente foram excluídos, pois estudos realizados em Seres Humanos e cães revelaram que são possíveis aumentos de glicémia e nas concentrações de lactato devido a anestesia (Brewster, Bunker & Beecher, 1952; Greene, 1961). Por exemplo, podem ocorrer aumentos através da libertação de adrenalina e impedimento parcial do metabolismo oxidativo a nível da conversão do piruvato a acetil-coenzima A durante a anestesia com éter e de diminuição da glicólise durante a anestesia com tiopental (Greene, Mackay & Bell, 1960).

A adrenalina desempenha um papel importante na regulação dos metabolismos lípidico, proteico e dos hidratos de carbono. Durante os estados fisiológico e de stress, os aumentos na

concentração de adrenalina estimulam a lipólise do tecido adiposo, glicogenólise do músculo e produção hepática de glucose (Rizza, Cryer, Haymond & Gerich, 1980; Chu *et al*, 1997; Chu *et al*, 2000). O efeito estimulatório da adrenalina na produção hepática de glucose ocorre de duas formas, indirecta, através de acção sobre os tecidos extra-hepáticos (músculo e tecido adiposo), e directa, no fígado, através da glicogenólise (Chu *et al*, 1997). Foi verificado que a adrenalina aumenta a captação de alanina, lactato e glicerol pelo fígado de cães e Seres Humanos, secundariamente aos efeitos desta catecolamina nos músculos e tecido adiposo (Steiner, Stevenson, Adkins-Marshall & Cherrington, 1991). O aumento da concentração de adrenalina provoca um aumento na produção de glucose hepática num intervalo de dez a quinze minutos (Sacca, Vigorito, Cicala, Corso & Sherwin, 1983; Chu *et al*, 1997). Em condições de stress, alterações no glucagon (hormona que actua sinergicamente com a adrenalina) e adrenalina, seriam acompanhadas por alterações também a nível das concentrações de insulina (Gustavson *et al*, 2003). Também se sabe que a adrenalina aumenta a concentração de lactato (Steiner *et al*, 1991). Infelizmente, apesar de terem sido requisitados os valores adrenalina para todas as amostras, na maioria dos casos, o laboratório não conseguiu obtê-los. As poucas amostras que foram possíveis processar apresentaram valores muito díspares, o que impossibilitou o tratamento adequado dos dados. No entanto e segundo os estudos indicados anteriormente, a adrenalina secretada nos grupos em estudo deverá ter tido pouca influência nos valores de glucose e lactato sanguíneos obtidos. Dado que a recolha de sangue foi realizada de forma relativamente rápida em todos os casos, um aumento de lactato secundário ao aumento fisiológico de adrenalina seria pouco provável, uma vez que o espaçamento temporal entre recolhas permitiria o regresso desta a valores normais. Além disso, o estudo de Chan e colaboradores (2005) demonstrou uma relação entre as concentrações de adrenalina e o grupo controlo de animais saudáveis mas não entre as primeiras e o grupo de gatos com doença crítica.

A administração de glucose é feita com o objectivo de fornecer ao tumor, substrato para metabolização, já que este preferencialmente, recorre a glicólise anaeróbia para obtenção de energia, levando à produção de lactato e consequente aumento sérico do mesmo (Heber, Byerly & Chlebowski, 1985; Ogilvie *et al*, 1993). Assim, para este efeito, foi realizada uma medição basal, após jejum de 12 horas, seguido de um bólus de glucose a 30%, calculado segundo o peso vivo do animal. Seguiu-se a recolha de amostras aos 30 e 60 minutos.

Da análise dos dados obtidos, verificou-se que as idades do grupo Controlo e do grupo Neoplasia apresentaram uma diferença estatisticamente significativa de um grupo para o outro. Não foram encontrados estudos ou descrições de casos em que os parâmetros medidos variassem significativamente com a idade. Mas este facto não descarta a possibilidade de

haver uma influência desta. Em termos clínicos, era esperado encontrar esta diferença, pois a maioria das neoplasias tende a surgir numa fase mais avançada da vida. Idealmente, deveria ter sido escolhida uma amostra para o grupo Controlo com idades aproximadas mas os constrangimentos já referidos impediram-no.

A diferença de peso entre grupos não foi estatisticamente significativa.

Após a análise dos resultados estatísticos obtidos para os diferentes parâmetros avaliados, concluímos que a glucose apresentava concentrações inferiores no grupo Controlo, existindo realmente uma diferença significativa entre os dois grupos, não só a nível basal após um jejum de 12 horas, como entre os tempos 30 e 60 minutos após a administração de glucose a 30%. Estes resultados sugerem que a produção de glucose foi superior em gatos com neoplasia, tal como foi descrito por Vail e colaboradores, em 1990, em cães com linfoma (citado por Ogilvie *et al*, 1992) e com neoplasias não hematopoiéticas (Ogilvie *et al*, 1997), embora nestes dois estudos, as diferenças entre os valores encontrados não tenham sido estatisticamente significativas. Já no estudo realizado por Chan *et al* (2005), foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa entre grupos controlo e de gatos com doença crítica (em que se incluíam gatos com neoplasia, apesar de não terem sido descritos independentemente dos outros casos), com os últimos também a apresentarem um valor superior de glucose.

O metabolismo da glucose em Seres Humanos com sarcoma e leucemia foi descrito como sendo duas e três vezes superiores aos valores em voluntários normais (Humberstone & Shaw, 1988).

Estas alterações nos valores poderão resultar da tendência preferencial que o tumor tem em metabolizar glucose, usando a glicólise anaeróbia, formando lactato como produto final. Uma parte do lactato produzido pelo tumor é convertido de volta a glucose através do Ciclo de Cori, principalmente no fígado do hospedeiro. Assim, em vez da glucose ser utilizada pelo hospedeiro no ciclo de Krebs com produção de mais energia, o tumor consome a glucose através da glicólise anaeróbia com pouca produção de energia. O hospedeiro perde energia e converte o lactato de volta a glucose, através do ciclo de Cori (Ogilvie *et al*, 1997). O efeito global será o aumento da glucose sérica.

No entanto, outros factores poderão ter contribuído para esta hiperglicémia. Além de um aumento de produção e de intolerância à glucose, os pacientes oncológicos demonstram muitas vezes, um estado de resistência à insulina que envolve o tecido adiposo, o músculo esquelético e o fígado. O aumento da produção hepática de glucose poderá ser o resultado de uma falha na inibição da gluconeogénese pela insulina e de diminuição de utilização de glucose pelo músculo esquelético, relacionados com um certo grau de resistência à insulina

pelo fígado. Tal foi observado em cães (Ogilvie *et al*, 1997) e Seres Humanos (Argilés, Alvarez & López-Soriano, 1997).

A diminuição da estimulação da entrada da glucose nas células não parece ser a consequência de um defeito na ligação da insulina aos seus receptores mas sim, um defeito após esta ligação ter sido efectuada, isto é, a nível intracelular (Argilés *et al*, 1997).

O tumor tem tendência a utilizar grandes quantidades de glucose, activando um mecanismo de compensação hepático (para a hipoglicémia e acidose) que resulta num aumento de produção de glucose despoletado pela resistência à insulina e aumento nas enzimas contra-regulatórias, tais como glucocorticóides ou glucagon (Argilés *et al*, 1997; Chan *et al*, 2006). O grau de produção de glucose pode também, ser influenciado por diversos factores, tais como o tipo histológico da neoplasia e o grau clínico de caquexia (Ogilvie *et al*, 1992).

No caso do cortisol, apenas foi encontrada diferença estatisticamente significativa, entre os tempos 30 e 60 minutos do grupo Neoplasia, embora neste último, as concentrações de cortisol sejam superiores ao grupo Controlo. No estudo de Chan e colaboradores (2006), o grupo Controlo e o grupo de doentes críticos apresentavam uma diferença estatisticamente significativa, igualmente com as concentrações do segundo superiores à do primeiro. Segundo Russel & Tisdale (2005), o aumento da secreção de cortisol é uma das alterações hormonais mais precoces da caquexia oncológica, que parecem aumentar paralelamente à perda de peso. O mecanismo através do qual os corticosteróides funcionam a nível de neoplasia, encontra-se explicado anteriormente (ver discussão para critérios de exclusão).

No caso da insulina sérica, observou-se que no grupo Controlo os valores foram superiores ao do grupo Neoplasia. Estes valores estão de acordo com um estudo realizado em gatos em estado crítico, em que se incluíam gatos com neoplasia (Chan *et al*, 2006), mas contrariam estudos em cães com linfoma (Ogilvie *et al*, 1997) e em cães neoplasias não hematopoiéticas (Ogilvie *et al*, 1992), que observaram concentrações de insulina superiores às encontradas em cães saudáveis, tal como tinha sido observado anteriormente por Vail e colaboradores, em 1990 (citado por Ogilvie *et al*, 1992). Neste ponto, a resposta dos gatos à neoplasia, tal como em resposta a estados críticos (Chan *et al*, 2006) ocorre ao contrário da espécie canina. Parece ser mais semelhante à observada na espécie Humana, em que se demonstrou que pacientes com neoplasia apresentam concentrações de insulina diminuídas. As possíveis causas desta redução podem ser a diminuição nas concentrações de insulina é a mobilização de ácidos gordos dos adipócitos periféricos, graças a aumento da lipólise, representados por aumento das concentração de ácidos gordos não esterificados (AGNE) em animais com doença crítica (Chan *et al*, 2006). Os AGNE podem também contribuir para o desenvolvimento de hiperglicémia através da resistência à insulina.

A secreção de insulina está dependente de aumentos agudos de AGNE, mas quando estes mantêm os seus níveis elevados, pode ocorrer lipotoxicidade e apoptose das células  $\beta$  e justificar a diminuição crónica da secreção de insulina (Wyne, 2003).

É possível que o tumor promova a produção de certas citocinas por células inflamatórias e do sistema imunitário, que por sua vez exercem a sua influência no sistema endócrino. Entre os possíveis mediadores destas respostas estão o factor de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), Interleucina-1 (IL-1), Interleucina-6 (IL-6) e Interferão  $\gamma$  ( $\gamma$ IFN), conhecidos pela sua capacidade de inibir a secreção de insulina (Besedovsky, Normann, Schardt & del Rey, 2000). Sendo que a insulina é um importante factor de crescimento para células normais e neoplásicas, é possível que a diminuição das suas concentrações reflectam uma tentativa do hospedeiro de inibir o desenvolvimento tumoral (Besedovsky *et al*, 2000).

Os valores médios de lactato sérico dos animais do grupo Controlo foram inferiores aos valores médios do grupo Neoplasia, tendo ocorrido uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos, no tempo zero, o que não se verificou em estudos anteriormente feitos em cães (Ogilvie *et al*, 1992; Ogilvie *et al*, 1997).

Também entre os tempos 30 e 60 minutos dentro do grupo Neoplasia se verificou uma diferença estatisticamente significativa. Estes dados estão de acordo com observações feitas nos mesmos estudos referidos anteriormente (Ogilvie *et al*, 1992; Ogilvie *et al*, 1997; Chan *et al*, 2005). A hiperlactacidémia foi observada na maioria dos pacientes oncológicos humanos com caquexia como resultado do aumento da taxa de glicólise anaeróbia (Holroyde, Skutches, Boden & Reichard, 1984; Heber *et al*, 1986; Richtsmeier, Dauchy & Sauer, 1987; Ogilvie *et al*, 1992). Pensa-se que as células tumorais são a fonte do aumento da concentração de lactato e que talvez usem formas embrionárias das principais enzimas do metabolismo anaeróbio, tais como hexocinase, 6-fosfofrutocinase e piruvato cinase, cuja dependência dos mecanismos contra-regulatórios do hospedeiros é menor (Ogilvie *et al*, 1997). É possível, embora não tenha ainda sido provado, que aumentos na glicólise a nível tumoral e dos tecidos do hospedeiro sejam responsáveis pelo aumento da produção de lactato em muitos, senão todos os tecidos corporais. Estes ciclos desnecessários poderão ser responsáveis pelo aumento das necessidades energéticas de pacientes Humanos com caquexia oncológica (Ogilvie *et al*, 1997).

Com base na análise dos nossos resultados, parece assim provável que estes gatos se enquadrem na definição das primeiras duas fases da caquexia oncológica. Os animais incluídos no estudo não apresentavam excesso de peso médio, nem sinais de perda de peso acentuado, assim como não havia indicação de uma redução drástica na ingestão. No entanto, apresentavam alterações a nível hormonal e do metabolismo dos hidratos de carbono, o que



corrobora a sua inclusão num estadio precoce de caquexia, anterior à manifestação de sinais clínicos, como já foi anteriormente observado e estudado em cães e Seres Humanos (embora existam diferenças significativas em relação aos canídeos) (Holroyde, Skutches, Boden & Reichard, 1984; Heber *et al*, 1986; Richtsmeier, Dauchy & Sauer, 1987; Ogilvie *et al*, 1992; Ogilvie *et al*, 1997). Graças à obtenção de variações semelhantes às observadas nestas duas últimas espécies, podemos pensar que os mecanismos através dos quais acontecem em gatos são os mesmos ou muito semelhantes, embora não seja possível estabelecer-se uma conclusão definitiva, uma vez que a amostra é pequena e não homogénea.

Para confirmar os dados obtidos assim como avaliar de forma mais completa as alterações hormonais em gatos com neoplasia, estudos futuros recorrendo a um maior número de animais deverão ser considerados, incluindo medição de parâmetros como os ácidos gordos, aminoácidos e glucagon.

Infelizmente, pelas razões enumeradas, não nos foi possível cumprir os dois objectivos inicialmente propostos. Se tal tivesse sido obtido, poder-se-ia testar a hipótese de a presença destas alterações constituir ou não um factor de prognóstico neoplásico em gatos.

## **6. Conclusão**

Em resumo, os trabalhos realizados, se bem que limitados pelo reduzido número de animais e diferentes considerações de ordem logística, permitiram identificar a presença de alterações de ambiente hormonal em gatos com neoplasia. Estas não só foram semelhantes às demonstradas em outras espécies, sobretudo a Humana, mas também permitiram classificar os animais em termos de grau de caquexia oncológica.

Mais estudos serão necessários para confirmar a presença destas alterações num maior número de animais. Além disso, estes deverão ser completados de forma a verificar se a presença das mesmas alterações é acompanhada por outras concomitantes (perfil de aminoácidos, ácidos gordos e glucagon). Finalmente, deverá ser investigada a possibilidade de estas alterações se manterem para diferentes tipos de neoplasia e se a terapêutica oncológica pode de alguma forma, influenciá-las.

## Bibliografia

- Allen, S. E. & Holm, J. L. (2008). Lactate: physiology and clinical utility. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 18(2), 123–132.
- Anderson, M. W., Reynolds, S. H., You, M. & Maronpot, R. M. (1992). Role of proto-oncogene activation in carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*, 98, 13-24.
- Argilés, J. M., Alvarez, B. & López-Soriano, F. J. (1997). The metabolic basis of cancer cachexia. *Medicinal Research Reviews*, 17(5), 477–498.
- Argyle, D. J. & Khanna, C. (2007). Tumor biology and metastasis. In S.J. Withrow & D.M. Vail, *Withrow's and MacEwen's Small Animal Oncology* (4th Ed., pp.31-53). USA: Saunders.
- Ascensão, J. L., Oken, M. M., Ewing, S. L., Goldberg, R. J., Kaplan, M. E. (2006). Leukocytosis and large cell lung cancer: A frequent association. *Cancer*, 60(4), 903–905.
- Assunção, M., Nascente, A., Guedes, C., Mazza, B., Jacki, M., Fernandes, H. and Machado, F. (2007). Lactate levels from arterial, central venous and peripheral venous blood in severe sepsis and septic shock patients. *Critical Care*, 11(Suppl 2), 452.
- Baez, J. L., Michel, K. E., Sorenmo, K. & Shofer, F. S. (2007). A prospective investigation of the prevalence and prognostic significance of weight loss and changes in body condition in feline cancer patients. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9, 411-417.
- Bagge, U., Skolnik, G. & Ericson, L. E. (1983). The arrest of circulating tumor cells in the liver microcirculation: a vital fluorescence microscopic, electron microscopic and isotope study in the rat. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 105, 134-140.
- Bakker, J., Coffernils, M., Leon, M., Gris, P., & Vincent, J. L. (1991). Blood lactate levels are superior to oxygen-derived variables in predicting outcome in human septic shock. *Chest*, 99, 956-962.
- Bakker, J., Gris, P., Coffernils, M., Kahn, R. J. & Vincent, J. L. (1996). Serial blood lactate levels can predict the development of multiple organ failure following septic shock. *American Journal of Surgery*, 171, 221-226.
- Barrand, K. R. & Scudamore, C. L. (2001). Canine hypertrophic osteoarthropathy associated with a malignant Sertoli cell tumour. *Journal of Small Animal Practice*, 42(3), 143-145.
- Barrs, V. R., Beatty, J. A., McCandlish, I. A. & Kipar, A. (2002). Hypereosinophilic paraneoplastic syndrome in a cat with intestinal T cell lymphosarcoma. *Journal of Small Animal Practice*, 43, 401-405.
- Barthez, P. Y., Marks, S. L., Woo, J., Feldman, E. C. & Matteucci, M. (1997). Pheochromocytoma in dogs: 61 cases (1984–1995). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 11(5), 272-278.

- Bennegard, K., Eden, E., Ekman, L., Schersten, T. & Lundholm, K. (1982). Metabolic balance across the leg in weight-losing cancer patients compared to depleted patients without cancer. *Cancer Research*, 42, 4293-4299.
- Bergman, P. J. (2007). Paraneoplastic syndromes. In S.J. Withrow & D.M. Vail, Withrow's and MacEwen's Small Animal Oncology (4th ed., pp.77-94). USA: Saunders.
- Besedovsky, H. O., Normann, S., Schardt, M. & del Rey, A. (2000). A reduction in blood insulin levels as a host endocrine response during tumor development. *International Journal of Immunopharmacology*, 22, 1113-1119.
- Bishop, J. S. & Marks, P. A. (1959). Studies on carbohydrate metabolism in patients with neoplastic disease. II. Response to insulin administration. *Journal of Clinical Investigation*, 38(4), 668-672.
- Bosaeus, I., Daneryd, P. & Lundholm, K. (2002). Dietary intake, resting energy expenditure, weight loss and survival in cancer patients. *The Journal of Nutrition*, 132, 3465S-3466S.
- Boysen, S. R., Bozzetti, L. R., Dunn, M. & Pang, D. S. J. (2009). Effects of prednisolone on blood lactate concentrations in healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23, 1123-1125.
- Brauer, M., Inculet, R. I., Bhatnagar, G., Marsh, G. D., Driedger, A. A. & Thompson, R. T. (1994). Insulin protects against hepatic bioenergetic deterioration induced by cancer cachexia: an in vivo <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy study. *Cancer Research*, 54, 6383-6386.
- Brewster, W. R., Bunker, J. P. & Beecher, H. K. (1952). Metabolic effects of anesthesia – VI. Mechanism of metabolic acidosis and hyperglycemia during ether anesthesia in the dog. *American Journal of Physiology*, 171, 37-47.
- Burt, M. E., Lowry, S. F., Gorschboth, C. & Brennan, M. F. (1981). Metabolic alterations in a noncachectic animal tumor system. *Cancer*, 47, 2138-2146.
- Cano, N. (2002). Bench-to-bedside review: Glucose production from the kidney. *Critical Care*, 6, 317-321.
- Case, D. P., Carey, D. A., Hirakawa & Daristotle, L. (2000). Nutritional care of cancer patients. In L.P. Case, D.P. Carey, D.A. Hirakawa & L. Daristotle (2nd Ed., pp.505-514), Canine and feline nutrition. Missouri, USA: Mosby.
- Chan, D.L., Freeman, L.M., Rozanski, E.A. & Rush, J.E (2006). Alterations in carbohydrates metabolism in critically ill cats. *Veterinary Emergency and Critical Care Society*, 16(2), S7-S13.
- Chisholm-Chait, A. (2000). Mechanisms of thrombocytopenia in dogs with cancer. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, vol 12 (11), 1006-1019.
- Christopher, M. M. & O'Neil, S. (2000). Effect of specimen collection and storage on blood glucose and lactate concentrations in healthy, hyperthyroidism and diabetic cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 29(1), 22-28.

Chu, C. A., Sindelar, D. K., Neal, D. W., Allen, E. J., Donahue, E. P. & Cherrington, A. D. (1997). Comparison of the direct and indirect effects of epinephrine on hepatic glucose production. *Journal of Clinical Investigation*, 99, 1044 – 1056.

Chu, C. A., Sindelar, D. K., Igawa, K., Sherck, S., Neal, D. W., Emshwiller, M. & Cherrington, A. D. (2000). The direct effects of catecholamines on hepatic glucose production occur via  $\alpha_1$ - and  $\beta_2$ -receptors in the dog. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 279, E463-E473.

Clarck, C. M. & Goodland, G. A. J. (1971). Depletion of proteins of phasic and tonic muscles in tumour-bearing rats. *European Journal of Cancer*, 7(1), 3-9.

Cohen, M. & Post, G. S. (1999). Nephrogenic diabetes insipidus in a dog with intestinal leiomyosarcoma. *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 215, 1818-1820.

Collins, F. S. & Trent, J. M. (2002). Genética do cancer. In E. Braunwald, A.S. Fauci, A.S. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo & J.L. Jameson. Harrison, Medicina Interna (15ª Ed., pp. 534-540). Rio de Janeiro, Brasil: McGrawHill.

Cori, C. F. & Cori, G. T. (1925). The carbohydrate metabolism of tumors. II. Changes in sugar, lactic acid, and CO<sub>2</sub>-combining power of blood passing through a tumor. *Journal of Biological Chemistry*, 66, 397-405.

de Blaauw, I., Deutz, N. E. P. & Von Meyenfeldt, M. F. (1997). Metabolic changes in cancer cachexia - first of two parts. *Clinical Nutrition*, 16, 169-176.

deLaforcade, A. M., Freeman, L. M., Rozanski, E. A. & Rush, J. E. (2005). Biochemical analysis of pericardial fluid and whole blood in dogs with pericardial effusion. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19, 833–836.

Dempsey, D. T. & Mullen, J. L. (1985). Macronutrient requirements in the malnourished cancer patient. *Cancer*, 55, 290-294.

de Papp, E., Drobatz, J. & Hughes, D. (1999). Plasma lactate concentration as a predictor of gastric necrosis and survival among dogs with gastric dilatation-volvulus: 102 cases (1995-1998). *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 215(1), 49-52.

Eden, E., Edstrom, S., Bennegard, K., Schersten, T. & Lundholm, K. (1984). Glucose flux in relation to energy expenditure in malnourished patients with and without cancer during periods of fasting and feeding. *Cancer Research*, 44, 1718-1724.

Elliot, J. (1991). Hypercalcemia in cats: a retrospective study of 40 cases. *Journal of Small Animal Practice*, 32, 564-567.

Eschun, G., Light, R. B. & Mink, S. N. (2000). Impaired hepatic extraction and increased splanchnic production contribute to lactic acidosis in canine sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 161, 517-526.

Fenton, R. G. & Longo, D. L. (2002). Biologia celular do câncer. In E. Braunwald, A. S. Fauci, A. S. Kasper, S. L. Hauser, D. L. Longo & J. L. Jameson. Harrison, Medicina Interna (15ª Ed., pp. 541-548). Rio de Janeiro, Brasil: McGrawHill.

- Ferraz, G. C., D'Angelis, F. H. F., Teixeira-Neto, A. R., Freitas, E. V. V., Lacerda-Neto, J. C. & Queiroz-Neto, A. (2008). Blood lactate threshold reflects glucose responses in horses submitted to incremental exercise test. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60(1), 256-259.
- Forrester, S. D., Greco, S. D. & Relford, R. L. (1992). Serum hyperviscosity syndrome associated with multiple myeloma in two cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 200, 70-82.
- Fox, L. E., Rosenthal, R. C., Twedt, D. C., Dubielzig, R. R., MacEwen E. G. & Grauer, G. F. (2009). Plasma histamine and gastrin concentrations in 17 dogs with mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 4(5), 242-246.
- Fredrix, E. W., Soeters, P. B., Wouters, E. F., Deerenberg, I. M., von Meyenfeldt, M. F. & Saris, W. H. (1991). Effect of different tumor types on resting energy expenditure. *Cancer Research*, 51, 6138-6141.
- Friedman, G., Berlot, G., Kahn, R. J. & Vincent, J. L. (1995). Combined measurements of blood lactate concentrations and gastric intramucosal pH in patients with severe sepsis. *Critical Care Medicine*, 23, 1184-1193.
- Frisch, S. M. & Francis, H. (1994). Disruption of epithelial cell-matrix interactions induces apoptosis. *The Journal of Cell Biology*, 124, 619-626.
- Fossum, T. W., Wellman, M., Relford, R. L. & Slatter, M. R. (1993). Eosinophilic pleural or peritoneal effusions in dogs and cats: 14 cases (1986-1992). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 202, 1873-1876.
- Gasparini, G. (2000). Prognostic value of vascular endothelial growth factor in breast cancer. *The Oncologist*, 5(1), 37-44.
- Gerich, J. E., Meyer, C., Woerle, H. J. & Stumvoll, M. (2001). Renal gluconeogenesis: its importance in human glucose homeostasis. *Diabetes Care*, 24, 382-391.
- Godfrey, D. R. (1998). A case of feline paraneoplastic alopecia with secondary malassezia-associated dermatitis. *Journal of Small Animal Practice*, 39, 394-396.
- Greene, N. M., Mackay, F. J. & Bell, J. K. S. (1960). Studies on carbohydrate metabolism during anesthesia. *Anesthesiology*, 21(1), 101-102.
- Greene, N. (1961). Lactate, Pyruvate, and Excess Lactate Production in Anesthetized Man. *Anesthesiology*, 22(3), 404-412.
- Griffey, S.M., Verstraete, F.J., Kraegel, S.A., Lucroy, M.D. & Madewell, B.R. (1998). Computer-assisted image analysis of intratumoral microvessel density in mammary tumours from dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 59, 1238-1242.
- Gustavson, S. M., Chu, C. A., Nishizawa, M., Farmer, B., Neal, D., Yang, Y., Donahue, E. P., Flakoll, P. & Cherrington, A. D. (2003). Interaction of glucagon and epinephrine in the control of hepatic glucose production in the conscious dog. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 284(4), E695 - E707.

Hagman, R., Reeziq, B. J., Ledin, H. B. & Karlstam, E. (2009). Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51(2). Consultado online em 29 de Abril, 2010 <http://www.actavetscand.com/content/51/1/2> (30 de Abril, 2010, último acesso).

Hainaut, P., Soussi, T., Shomer, B., Hollstein, M., Greenblatt, M., Hovig, E., Harris, C. C. & Montesano, R. (1997). Database of p53 gene somatic mutations in human tumors and cell lines: updated compilation and future prospects. *Nucleic Acids Research*, 25, 151-157.

Handy, J. (2007). The origin and interpretation of hyperlactataemia during low oxygen delivery state. *Critical Care*, 11(1), 104. <http://ccforum.com/content/11/1/104> (30 de Abril, 2010, último acesso).

Hatgis, A. M. & Feldman, B. F. (1991). Evaluation of hemostatic defects secondary to vascular tumors in dogs: 11 cases (1983-1988). *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 198, 891-894.

Heber, D., Byerley, L. O., Chi, J., Grosvenor, M., Bergman, R. N., Coleman, M. & Chlebowski, R. T. (1986). Pathophysiology of malnutrition in the adult cancer patient. *Cancer*, 58, 1867-1873.

Heber, D., Byerly, L. O. & Chlebowski, R. T. (1985). Metabolic abnormalities in the cancer patient. *Cancer*, 55, 225-229.

Hellmann, J., Vannucci, R. C. & Nardis, E. E. (1982). Blood-brain barrier permeability to lactic acid in the newborn dog: lactate as a cerebral metabolic fuel. *Pediatric Research*, 16, 40-44.

Henderson, I. S. F., Franklin, R. P., Wilkins, P. A. & Boston, R. C. (2008). Association of hyperlactatemia with age, diagnosis, and survival in equine neonates. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 18(5), 496-502.

Hohmann, B., Frohnert, P. P., Kinne, R. & Baumann, K. (1974). Proximal tubular lactate transport in rat kidney: a micropuncture study. *Kidney International*, 5, 261-270.

Holroyde, C. P., Gabuzda, T. G., Putnam, R. C., Paul, P. & Reichard, G. A. (1975). Altered glucose metabolism in metastatic carcinoma. *Cancer Research*, 35, 3710-3714.

Holroyde, C. P., Skutches, C. L., Boden, G. & Reichard, G. A. (1984). Glucose metabolism in cachectic patients with colorectal cancer. *Cancer Research*, 44, 5910-5913.

Hughes, D., Rozanski, E. R., Shofer, F. S., Laster, L. L. & Drobatz, K. J. (1999). Effect of sampling site, repeated sampling, pH and PCO<sub>2</sub> on plasma lactate concentrations in healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 60(4), 521-524.

Hughes, D. (2000). Lactate measurement: diagnostic, therapeutic and prognostic implications. In Kirk, R. & Bonagura, J. D. (Ed.), *Current Veterinary Therapy XIII: Small Animal Practice*. (8<sup>th</sup> Ed., pp.112-116). Philadelphia: WB Saunders Company.

Humberstone, D. M. & Shaw, J. H. F. (1988). Metabolism in hematologic malignancy. *Cancer*, 62, 1619-1624.

- Ihler, C. F., Venger, J. L. & Skjerve, E. (2004). Evaluation of clinical and laboratory variables as prognostic indicators in hospitalised gastrointestinal colic horses. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 45, 109-118.
- Iscra, F., Gullo, A. & Biolo, G. (2002). Bench-to-bedside review: Lactate and the lung. *Critical Care*, 6, 327-329.
- Jacobs, E., Vadasdi, E., Sarkozi, L. & Colman, N. (1993). Analytical evaluation of I-stat portable clinical analyzer and use by nonlaboratory health-care professionals. *Clinical Chemistry*, 39(6), 1069–1074.
- Jacobson, L. S. & Lobetti, R. G. (2005). Glucose, lactate and pyruvate concentrations in dogs with babesiosis. *American Journal of Veterinary Research*, 66(2), 244-250.
- Kellum, J. A., Kramer, D. J., Mankad, S., Bellomo, R., Lee, K. & Pinsky, M. R. (1997). Release of lactate by the lung in acute lung injury. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 411, 281-285.
- Kiragga, A. K., Ocama, P., Reynolds, S. J., Kambugu, A., Ojiambo, H., Castelnuovo, B. (2008). Validation of a portable hand-held lactate analyzer for determination of blood lactate in patients on antiretroviral therapy in Uganda. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 49(5), 564-566.
- Kleiter, M., Hirt, R., Kirtz, G. & Dav, M. J. (2001). Hypercalcemia associated with chronic lymphocytic leukaemia in a giant schnauzer. *Australian Veterinary Journal*, 79, 335-338.
- Kumar, V., Abbas, A. & Fausto, N. (2005). In Kumar, V., Abbas, A. & Fausto, N. Robbins & Cotran (7th Ed.). Pathologic basis of disease. Philadelphia: Saunders.
- Kusewit, D. F. & Rush, L. J. (2007). Neoplasia and tumor biology. In M. D. McGavin & J. F. Zachary (4th ed., pp.253-298). Pathologic basis of veterinary disease. USA: Mosby Elsevier.
- Lee, C. Kim, W., Lim, J. Kang, M., Kim, D. & Kweon, O. (2004). Mutation and overexpression of *p53* as a prognostic factor in canine mammary tumors. *Journal of Veterinary Science*, 5, 63-69.
- Lee, C. & Kweon, O. (2002). Mutations of *p53* tumor suppressor gene in spontaneous canine mammary tumors. *Journal of Veterinary Science*, 3(4), 321-325.
- Leverve, X. M. & Mustafa, I. (2002). Lactate - a key metabolite in the intercellular metabolic interplay. *Critical Care*, 6(4), 284-285.
- Levrant, J., Ichai, C., Petit, I., Ciebiera, J. P., Perus, O. & Grimaud, D. (2003). Low exogenous lactate clearance as an early predictor of mortality in normolactatemic critically ill septic patients. *Critical Care Medicine*, 31, 705-710.
- Loeb, K. R. & Loeb, L. A. (2000). Significance of multiple mutations in cancer. *Carcinogenesis*, 21(3), 379-385.
- London, C. (2000). Tumor biology In S.J. Ettinger. & E.C. Feldman. Textbook of veterinary internal medicine (5th ed., pp. 478-483). USA: Elsevier.



- Ludwig, H., Belle, S. V., Barrett-Lee, P., Birgegard, G., Bokemeyer, C., Gascón, P., Kosmidis, P., Krzakowski, M., Nortier, J., Olmi, P., Schneider, M. & Schrijvers, D. (2004). The European Cancer Anaemia Survey (ECAS): a large, multinational, prospective survey defining the prevalence, incidence, and treatment of anaemia in cancer patients. *European Journal of Cancer*, 40, 2293–2306.
- Luft, F. C. (2001). Lactic acidosis update for critical care clinicians. *Journal of the American Society of Nephrology*, 12, S15–S19.
- Lundholm, K., Daneryd, P., Bosaeus, I., Korner, U. & Lindholm, E. (2004). Palliative nutritional intervention in addition to cyclooxygenase and erythropoietin treatment for patients with malignant disease: effects on survival, metabolism and function. A randomized prospective study. *Cancer*, 100, 1967-77.
- Lundholm, K., Holm, G. & Schersten, T. (1978). Insulin resistance in patients with cancer. *Cancer Research*, 38, 4665-4670.
- Lundholm, K., Korner, U., Gunnebo, L., Sixt-Ammilon, P., Fouladium, M., DANeryd, P. & Bosaeus, I. (2007). Insulin treatment in cancer cachexia: effects on survival, metabolism and physical functioning. *Clinical Cancer Research*, 13, 2699-2706.
- Marks, P. A. & Bishop, J. S. (1956). The glucose metabolism of patients with malignant disease and of normal subjects as studied by means of an introvenous glucose tolerance test. *Journal of Clinical Investigation*, 36(2), 254–264.
- Mauldin, G. E. (2007). Nutricional management of the cancer patient. In S.J. Withrow & D.M. Vail, *Withrow's and MacEwen's Small Animal Oncology* (4th Ed., pp. 305-326). USA: Saunders.
- Mckinlay, A.W. (2004). Nutritional support in patients with advanced câncer: permission to fall out? *Proceedings of the nutrition society*, 63, 431-435.
- McMichael, M. A., Lees, G. E., Hennessey, J., Sanders, M. & Boggess, M. (2005). Serial plasma lactate concentrations in 68 puppies aged 4 to 80 days. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 15(1), 17-21.
- McNiel, E. A., Ogilvie, G. K., Fettman, M. J. & Salman, M. D. (1997). Platelet hyperfunction in dogs with malignancies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 11, 178-182.
- Meregalli, A., Oliveira, R. P. & Friedman, G. (2004). Occult hypoperfusion is associated with increased mortality in hemodynamically stable, high-risk, surgical patients. *Critical Care*, 8(2), 60-65.
- Michel, K. E., Sorenmo, K. & Shofer, F. S. (2004). Evaluation of body condition and weight loss in dogs presented to a veterinary oncology service. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18, 692-695.
- Millanta, F., Lazzeri, G., Vannozzi, I., Viacava, P. & Poli, A. (2002). Correlation of Vascular Endothelial Growth Factor Expression to Overall Survival in Feline Invasive Mammary Carcinoma. *Veterinary Pathology*, 39, 690 –696.

- Millanta, F., Silvestri, G., Vaselli, C., Citi, S., Pisani, G., Lorenzi, D. & Poli, A. (2006). The role of vascular endothelial growth factor and its receptor Flk-1/KDR in promoting tumour angiogenesis in feline and canine mammary carcinomas: A preliminary study of autocrine and paracrine loops. *Research in Veterinary Science*, 81, 350–357.
- Modiano, J. F. & Breen, M. (2007). Genetic factors. In S.J. Withrow & D.M. Vail, Withrow's and MacEwen's Small Animal Oncology (4th Ed., pp. 3-12). USA: Saunders.
- Moley, J. F., Morrison, S. D. & Norton, J. A. (1985). Insulin reversal of cancer cachexia in rats. *Cancer Research*, 45, 4925-4931.
- Morris, C. G. & Low, J. (2008). Metabolic acidosis in the critically ill: Part 2. Causes and treatment. *Anaesthesia*, 63, 396–411.
- Nel, M., Lobetti, R. G., Keller, N. & Thompson, P. N. (2005). Prognostic value of blood lactate, blood glucose and hematocrit in canine babesioses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18(4), 471-476.
- Norton, J. A., Maher, M., Wesley, R., White, D. & Brennan, M. F. (1984). Glucose intolerance in sarcoma patients. *Cancer*, 55, 3022-3027.
- Ogilvie, G. K. (2002). Nutrition and Cancer: Exciting Advances for 2002! <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2002&PID=2638>, em 29 de Abril, 2010 (data do último acesso).
- Ogilvie, G. K. (2000) Paraneoplastic syndromes In S. J. Ettinger. & E. C. Feldman. Textbook of Veterinary Internal Medicine (7th ed., pp. 498-506). USA: Elsevier.
- Ogilvie, G. K. & Marks, S. L. (2000). Cancer In M. S. Hand, C. D. Thatcher, R. L. Remillard & P. Roudebusch (4th ed., pp. 887-906), Small Animal Clinical Nutrition. Missouri, USA: Walsworth Publishing Company.
- Ogilvie, G. K., Vail, D. M., Wheeler, S. L., Fettman, M. D., Salman, M. D., Johnston, S. D. & Hegstad, R. L. (1992). Effects of chemotherapy and remission on carbohydrate metabolism in dogs with lymphoma. *Cancer*, 69(1), 233-238.
- Ogilvie, G. K. & Vail, D. M. (1994). Alterations in selected aspects of carbohydrate lipid and amino acid metabolism in dogs with non-hematopoietic malignancies. *American Journal of Veterinary Research*, 8, 62-66.
- Ogilvie, G. K., Walters, L. M., Fettman, M. J., Hand, M. S., Salman, M. D. & Wheeler, S. L. (1993). Energy expenditure in dogs with lymphoma fed two specialized diets. *Cancer*, 71(10), 3146–3152.
- Ogilvie, G. K., Walters, L. M., Salman, M. D. & Fettman, M. J. (1996). Resting energy expenditure in dogs with nonhematopoietic malignancies before and after excision of tumors. *American Journal of Veterinary Research*, 57(10), 1463-1467.
- Ogilvie, G.K., Walters, L.M.S., Salman, M.D., Fettman, M.J.F., Johnston, S.D. & Hegstad, R.L. (1997). Alterations in carbohydrate metabolism in dogs with nonhematopoietic malignancies. *American Journal of Veterinary Research*, 58(3), 277-281.

Pellerin, L. & Magistretti, P. (2003). How to balance brain energy budget while spending glucose differently. *Journal of Physiology*, 546, 325.

Peeters, D., Clercx, C., Thiry, A., Hamaide, A., Snaps, F., Henroteaux, M., Ogilvie, G. K. & Day, M.J. (2001). Resolution of paraneoplastic leukocytosis and hypertrophic osteopathy after resection of a renal transitional cell carcinoma producing granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in a young bull terrier. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15, 407-411.

Pittard, A. J. (1999). Does blood lactate measurement have a role in the management of the critically ill patient? *Annals of Clinical Biochemistry*, 36, 401-407.

Pollard T. D. & Earnshaw W. C. (2002). Cell biology, Philadelphia, Saunders.

Pressler, B. M., Rotstein, D. S., Law, J.M., Rosol, T. J., LeRoy, B., Keene, B. W. & Jackson, M. W. (2002). Hypercalcemia and high parathyroid hormone-related protein concentration associated with malignant melanoma in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221, 263-265.

Restucci, B., De Vico, G., & Maiolino, P. (2000). Evaluation of angiogenesis in canine mammary tumors by quantitative platelet endothelial cell adhesion molecule immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*, 37, 297-301.

Richtsmeier, W. J., Dauchy, R. & Sauer, L. A. (1987). *In Vivo* Nutrient Uptake by Head and Neck Cancers. *Cancer Research*, 47, 5230-5233.

Ridyard, A. E., Rhind, S. M., French, A. T., Munro, E. A. C. & Hill, P. B. (2008). Myasthenia gravis associated with cutaneous lymphoma in a dog. *Journal of Small Animal Practice*, 41(8), 348-351.

Rizza, R. A., Cryer, P. E., Haymond, M.W. & Gerich, J. E. (1980). Adrenergic mechanism for the effects of epinephrine on glucose production and clearance in man. *Journal of Clinical Investigation*, 65, 682-689.

Rodney, L. & Page, M. S. (2001). Prognostic factors for canine and feline mammary cancer. In: Proceedings of the Atlantic Coast Veterinary Conference, October 9-11, 2001, Atlantic City, New Jersey, <http://www.vin.com/VINDBPub/SearchPB/Proceedings/PR05000/PR00393.htm> (17 de Abril, 2010, data do último acesso).

Romanholi, D. J.P.C. & Salgado, L. R. (2007). Síndrome de Cushing exógena e retirada de glicocorticóides. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia*, 51 (8), 1280-1292.

Russell, S. T. & Tisdale, M. J. (2005). The role of glucocorticoids in the induction of zinc- $\alpha$ 2-glycoprotein expression in adipose tissue in cancer cachexia. *British Journal of Cancer*, 92, 876 – 881.

Sacca, L., Vigorito, C., Cicala, M., Corso, G. & Sherwin, R. S. (1983). Role of gluconeogenesis in epinephrine-stimulated hepatic glucose production in humans. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 245, E294-E302.

Sacks, D. B. (1994). Carbohydrates, In: Burtis CA, Ashwood ER. Tietz. Textbook of Clinical

Chemistry (2<sup>nd</sup> Ed., pp. 928–1001). Philadelphia: W.B. Saunders Company.

Savary, K. C., Price, G. S., Vaden, S. L. (2000). Hypercalcemia in two cats with multiple myeloma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14, 184-189.

Schafer, K. A., Kelly, G., Schrader, R., Griffith, W. C., Muggenburg, B. A., Tierney, L. A., Lechner, J. F., Janovitz, E. B. & Hahn, F. F. (1998). A canine model of familial mammary gland neoplasia. *Veterinary Pathology*, 35, 168-177.

Sellon, R. K., Rottman, J. B., Jordan, H. L., Wells, M R., Simpson, R. M., Nelson, P. & Keene, B. W. (1992). Hypereosinophilia associated with transitional cell carcinoma in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201, 591-593.

Shapot, V. S. & Blinov, V. A. (1974). Blood glucose levels and gluconeogenesis in animals bearing transplantable tumors. *Cancer Research*, 34, 1827-1832.

Shaw, D. H. (1988). Gastrinoma (Zollinger-Ellison syndrome) in the dog and cat. *Canadian Veterinary Journal*, 29, 448-452.

Singh, J., Grigor, M. R. & Thompson, M. P. (1980). Glucose homeostasis in rats bearing a transplantable sarcoma. *Cancer Research*, 40, 1699-1706.

Spandidos, D. (1985). Mechanism of carcinogenesis: the role of oncogenes, transcriptional enhancers and growth factors. *Anticancer Research*, 5, 485-498.

Steiner, K. E., Stevenson, R. W., Adkins-Marshall, B. A. & Cherrington, A. D. (1991). The effects of epinephrine on ketogenesis in the dog after a prolonged fast. *Metabolism*, 40(10), 1057-1062.

Stevenson, C. K., Kidney, B. A., Duke, T., Snead, E. C. R., Mainar-Jaime, R. C. & Jackson, M. L. (2007). Serial blood lactate concentrations in systematically ill dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 36, 234-239.

Sullivan, L. A., Campbell, V. L., Klopp, L. S. & Rao, S. (2009). Blood lactate concentrations in anesthetized dogs with intracranial disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23, 488-492.

Tayek, J. A., Blackburn, G. L. & Bistrian, B. R. (1988). Alterations in whole body, muscle, liver and tumor tissue protein synthesis and degradation in Novikoff hepatoma and Yoshida sarcoma tumor growth studied in vivo. *Cancer Research*, 48, 1554-1558.

Thompson, J. P., Christopher, M. M., Ellison, G. W., Homer, B. L. & Buchanan, B. A. (1992). Paraneoplastic leukocytosis associated with a rectal adenomatous polyp in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201(5), 737-738.

Tisdale, M. J. (1999). Clinical trials for the treatment of secondary wasting and cachexia - wasting in cancer. *Journal of Nutrition*, 129, 243S–246S.

Todorova, I. (2006). Prevalence and etiology of the most common malignant tumours in dogs and cats. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 9, No 2, 85--98.

- Vaisman, N., Gosdoparowicz, D., & Neufeld, G., (1990). Characterization of the receptors for vascular endothelial growth factor. *Journal of Biological Chemistry*, 265, 19461–19469.
- Valenza, F., Aletti, G., Fossali, T., Chevallard, G., Sacconi, F., Irace, M. & Gattinoni, L. (2005). Lactate as a marker of energy failure in critically ill patients: hypothesis. *Critical Care*, 9(6), 588-593.
- Vitek, V. & Cowley, R. A. (1971). Blood lactate in the prognosis of various forms of shock. *Annals of Surgery*, 173, 308-313.
- Waner, T., Anug, A. M. & Aizenberg I. (2007). Superficial necrolytic dermatitis in a dog. A case report and review of the literature. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 62 (1), 14-19.
- Warnold I., Lundholm, K., & Schersten, T. (1978). Energy balance and body composition in cancer patients. *Cancer Research*, 38, 1801-1807.
- Weil, M. H. & Afifi, A. A. (1970). Experimental and clinical studies on lactate and pyruvate as indicators of the severity of acute circulatory failure (shock). *Circulation*, 41, 989-1001.
- Wyne, K. L. (2003). Free fatty acids and type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Medicine*, 115 (8A), 29S-36S.

**Anexo 1: Ficha Clínica e de Registo de Resultados**

Nome do dono: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_  
 Morada: \_\_\_\_\_  
 Contacto: \_\_\_\_\_

**Informações sobre o animal**

Nome do animal: \_\_\_\_\_  
 Raça: \_\_\_\_\_ Sexo: F/M  
 Esterilização: S/N Se sim, idade: \_\_\_\_\_  
 Outras cirurgias: \_\_\_\_\_  
 Tomou algum tipo de medicação recentemente? S/N  
 Se sim, durante quanto tempo:  
 há quanto tempo parou?  
 qual?  
 FIV/FeLV: \_\_\_\_\_  
 Outras doenças: \_\_\_\_\_

**Exames Físico e Complementares**

Estado geral: \_\_\_\_\_  
 Peso: \_\_\_\_\_ kg  
 TRC: \_\_\_\_\_ Mucosas: \_\_\_\_\_ Linfonodos: \_\_\_\_\_  
 Palpação Abdominal: \_\_\_\_\_ Palpação Mamária: \_\_\_\_\_  
 Auscultação Pulmonar: \_\_\_\_\_  
 Auscultação Cardíaca: \_\_\_\_\_  
 Alterações ao ECG: (ver em anexo)  
 Alterações radiográficas: (ver em anexo)  
 Resultados Hemograma, bioquímicas: (ver em anexo)  
 Resultados de outros exames complementares: (ver em anexo)

**Informações sobre a neoplasia**

Tumor detectado há quanto tempo: \_\_\_\_\_  
 Localização: \_\_\_\_\_  
 TMN: T \_\_\_\_\_ ; M \_\_\_\_\_ ; N \_\_\_\_\_  
 Metástases – Sim Não

**Valores de Glucose (Animais Neoplasia/Controlo)**

Antes administração glucose a 30%, IV: \_\_\_\_\_ mg/dl  
 Após administração glucose a 30%, IV:  
     5min: \_\_\_\_\_ mg/dl  
     30min: \_\_\_\_\_ mg/dl  
     60min: \_\_\_\_\_ mg/dl

**Valores de Cortisol (Animais Neoplasia/Controlo)**

Antes administração glucose a 30%, IV: nmol/L

Após administração glucose a 30%, IV:

5min: nmol/L

30min: nmol/L

60min: nmol/L

**Valores de Insulina (Animais Neoplasia/Controlo)**

Antes administração glucose a 30%, IV: mU/L

Após administração glucose a 30%, IV:

5min: mU/L

30min: mU/L

60min: mU/L

**Valores de Adrenalina (Animais Neoplasia/Controlo)**

Antes administração glucose a 30%, IV: ng/L

Após administração glucose a 30%, IV:

5min: ng/L

30min: ng/L

60min: ng/L

**Valores de Lactato (Animais Neoplasia/Controlo)**

Antes administração glucose a 30%, IV: mmol/L

Após administração glucose a 30%, IV:

5min: mmol/L

30min: mmol/L

60min: mmol/L

## Anexo 2

Valores de Glucose (de acordo com o tempo e com o grupo).

<b>0</b>		<b>30</b>		<b>60</b>	
<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>
<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>	<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>	<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>
58	127	121	264.4	97	157.4
72.1	173	160	103.6	110.4	109.8
97	267.6	150.1	373.3	146.7	346.7
80.8	112	169.3	247.1		

Valores de Cortisol (de acordo com o tempo e com o grupo).

<b>0</b>		<b>30</b>		<b>60</b>	
<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>
<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>	<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>	<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>
198.6	230.4	150	103.7	154.7	145.9
98.04	193.1	67.04	223	207.8	218.8
68.8	101.6	206.6	110.33	114.3	105.7
344.1	106.5	206	104.3	145	96.4
30.8	106	56.1	228.3	49.7	197.4

Valores de Insulina (de acordo com o tempo e com o grupo).

<b>0</b>		<b>30</b>		<b>60</b>	
<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>
<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>	<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>	<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>
2.6	21.9	14.3	54.6	26.1	87.6
10.7	7.9	49.2	23.3	89.4	35.5
6	3.8	12.6	10.3	6.9	1.3
33.9	0.6	25.5	2	13.8	1.7
12.2	3.4	37.5	14.9	29.3	24.6



Valores de Adrenalina (de acordo com o tempo e com o grupo).

<b>0</b>		<b>30</b>		<b>60</b>	
<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>
<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>	<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>	<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>
126	49	12	464	75	57
102	171	246	59	246	404
66	42	129	219	320	137
222			38		84
			464		195

Valores de Lactato (de acordo com o tempo e com o grupo).

<b>0</b>		<b>30</b>		<b>60</b>	
<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>
<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>	<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>	<b>Controlo</b>	<b>Neoplasia</b>
2.1	3.6	3	2.5	3	2.3
2.8	3.6	2.3	3.7	2.9	3.2
2	3.9	2.9	2.9	2.4	3.1
2.4	1.9	2.9	2.4	2.3	1.9
2	4.1	3.3	4	3	4.4

